

Aus dem Institut für gerichtliche Medizin und Kriminalistik
der Universität Erlangen
Vorstand: Prof. Dr. med., Dr. phil. E. Weinig

Die toxikologische Harnanalyse
zum Nachweis von
Barbitursäure- und Harnstoffabkömmlingen

Der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Friedrich-Alexander-Universität
zu
Erlangen

als Habilitationsschrift
vorgelegt von
Dr. med. Georg Schmidt



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Institut für gerichtliche Medizin und Kriminalistik
der Universität Erlangen (Vorstand: Prof. Dr. med. et phil. E. WEINIG)

Der intravitale und postmortale Abbau von Barbitalen*, **

Von

GEORG SCHMIDT

Mit 1 Textabbildung

(Eingegangen am 3. Januar 1958)

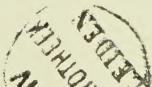
Trotz vieler neuer synthetischer Schlafmittel verursachen die Barbitale oder Barbiturate auch heute noch den größten Teil aller Vergiftungen nächst dem Kohlenmonoxyd. Neuerdings wird sogar ein wesentlicher Anstieg des Barbituratmißbrauchs nicht nur in den USA (SUNSHINE, KOPPANYI), sondern auch in Deutschland (H. BAUR) verzeichnet. Statistiken aus den 30er Jahren (SIEBERT, LESCHKE, HENDRYCH, BALÁSZ, MARRI, HAMBOURGER) nennen den Anteil der Barbital-Vergiftungen an den Schlafmittelvergiftungen mit etwa 90 % und den der Schlafmittelvergiftung mit 40 % an der Gesamtzahl gemeldeter Vergiftungen. COMMERELL u. SOEHRING haben für Hamburg 1945—1948 folgende Häufigkeit im Gebrauch der einzelnen Schlafmittel zu Selbstmordversuchen berechnet: Phanodorm 31 %, Luminal 29 %, Veronal 20 %, Adalin 7 %. Diese Angaben decken sich etwa mit den Erfahrungen unseres Institutes — bei aller Zurückhaltung gegenüber statistischen Auswertungen angesichts der bei Vergiftungen stets großen Dunkelziffer.

In den letzten Jahren sind zwar immer häufiger Vergiftungen mit neuen barbitursäurefreien Schlafmitteln zu beobachten, etwa mit Persedon, Noludar, Valamin, Doriden; aber auch neue Barbitursäure-Präparate wurden in großer Zahl auf den westdeutschen Arzneimittelmarkt gebracht.

Für den Gerichtsmediziner steht neben der Symptomatik und pathologischen Anatomie der Barbital-Vergiftungen die Frage des Nachweises im Vordergrund. Bei der Vielzahl von Barbitursäure-Präparaten und chemisch sehr ähnlich gebauten Mitteln genügt der Gruppennachweis von Barbitursäure nicht mehr, der in der bekannten Form der gefärbten Kobalt- und Kupfer-Komplexe (ZWIKKER) zudem verhältnismäßig

* Nach einem anlässlich der Jahresversammlung der Deutschen Gesellschaft für gerichtliche und soziale Medizin in Heidelberg am 3. 7. 57 gehaltenen Vortrag.

** Die experimentellen Untersuchungen zu dieser Arbeit wurden mit verständnisvoller personeller und apparativer Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft durchgeführt, wofür ihr auch an dieser Stelle unser Dank ausgesprochen sei.



wenig empfindlich ist. Die meisten Barbitale werden auch zu einem erheblichen Teil umgewandelt und vorwiegend als Oxydationsprodukte ausgeschieden. Bisher sind die Identifizierungsmöglichkeiten der einzelnen Barbitursäurederivate und ihrer Stoffwechselprodukte noch wenig erforscht. Wir haben deshalb versucht, zu besseren Nachweismöglichkeiten mit Hilfe verfeinerter Isolierungs- und Identifizierungsmaßnahmen zu gelangen. Dabei mußten vor allem die derzeitigen Kenntnisse über die Abbau- und Ausscheidungsverhältnisse von Barbitalen berücksichtigt, aber auch an die Veränderungen während der Alterung und Fäulnis des Untersuchungsmaterials gedacht werden. Entsprechend der führenden Rolle der Niere bei der Barbital-Ausscheidung haben wir uns vor allem mit dem Nachweis im Harn befaßt und die in der Praxis gegebenen Verhältnisse hinsichtlich der Menge und Beschaffenheit des Untersuchungsgutes berücksichtigt.

Die klinischen Zeichen der Barbitalvergiftung (ausführlich bei GOODMAN u. GILMAN) können eine Verdachtsdiagnose ermöglichen, aber erst der chemische Nachweis des aufgenommenen Mittels oder seiner Stoffwechselprodukte gestattet die sichere Beurteilung eines Symptomenkomplexes, auf dessen Kriterien erst kürzlich KOPpanyi hingewiesen hat. Von Schwere und Verlauf der Vergiftung hängt aber auch die Größe der Ausscheidung und des Abbaues ab. Im Vordergrund steht die Depression des Atemzentrums, die bei sehr großer Giftaufnahme (intravenös und auch per os) *schon nach 1 Std* zum Tode führen kann. Bei den in der Regel beobachteten langsamer verlaufenden Vergiftungen werden die Zeichen einer leichten bis tiefen Narkose, bei verschiedenem Grad der Arreflexie und Erschlaffung der Muskulatur gefunden; enge Pupillen bei leichterer, weitere Pupillen bei tiefer Narkose. Die Folge ist bei schwerer Vergiftung erhebliche Senkung des Atemvolumens, Cyanose, Blutdruckabfall und Hypothermie. Sekundär kann sich eine Hyperthermie und Lungenentzündung entwickeln, der Tod tritt oft erst nach Tagen an der sekundären Infektion ein. In der Regel ist nur bei den langwirkenden Barbitalen (s. S. 96) nach mehrtägigem Vergiftungsverlauf ein Rest des Schlafmittels im Körper zu erwarten.

Charakteristische pathologisch-anatomische und pathologisch-histologische Befunde gibt es bei der Barbital-Vergiftung nicht. (Übersicht bei ADEBAHR.) Der chemische Nachweis einer Giftaufnahme stellt daher bei der forensisch-toxikologischen Begutachtung die Grundlage einer sicheren Beurteilung dar, wobei selbstverständlich die Gesamtumstände sorgfältig zu berücksichtigen sind.

Die Schwierigkeiten eines einwandfreien chemischen Nachweises in der forensisch-toxikologischen Praxis können wie folgt umrissen werden:

1. Große Ausscheidungsquote bei langer Vergiftungsdauer; geringe restliche Giftkonzentration in Körperflüssigkeiten und Leichenteilen.

2. Geringe Menge an Untersuchungsmaterial. Fehlende Hinweise auf das in Frage kommende Mittel. Daher zunächst orientierende Vorversuche notwendig.

3. Intravitale Stoffwechselveränderungen. Auftreten von Metaboliten, die bisher nur teilweise erforscht sind. *Tierversuchsergebnisse sind nur bedingt auf den Menschen übertragbar.*

4. Schwierigkeiten der Isolierung und Trennung von Körperprodukten und anderen Giften.

5. Postmortale Veränderungen der Barbitale bei der Leichenfäulnis und -verwesung, Veränderungen bei der Alterung des Untersuchungsmaterials in vitro.

Schematisch kann man sich die Untersuchungsaussichten etwa folgendermaßen veranschaulichen, wobei ein Barbitursäurederivat angenommen wird (B), das nur ein Oxydationsprodukt (Ox) liefert und teilweise hydrolytische Spaltung post mortem erfährt (β bzw. ϕx).

Die Zeitspannen sind willkürlich gewählt, kommen aber in ähnlicher Weise in praxi in Betracht.

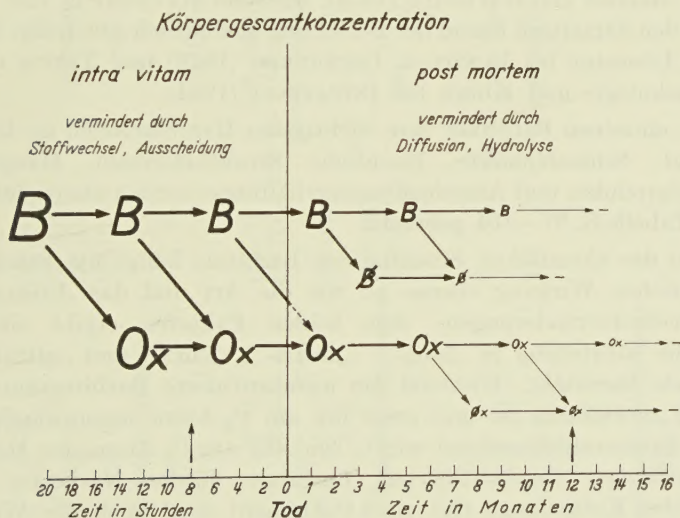


Abb. 1. Modell des intravitales und postmortalen Abbaues eines Barbitals. B = Barbital, β = hydrolytisch gespaltenes Barbital Ox = Oxydationsprodukt, ϕx = hydrolytisch gespaltenes Oxydationsprodukt

Acht Stunden vor dem Tode (Pfeil) ist z. B. mit 2 Substanzen zu rechnen, 12 Monate danach mit mindestens 4, die sich für den Nachweis eignen und deren Vorhandensein in der Mehrzahl unter Umständen den Nachweis eines bestimmten Präparates erleichtern kann.

Nach WEINIG ist außerdem post mortem neben Diffusion und Hydrolyse mit Reduktionsvorgängen zu rechnen (Untersuchungen von O. SCHMIDT u. LORKE).

Bei den angedeuteten Schwierigkeiten des Nachweises ist es daher zwingend notwendig, Art und Quote der möglichen Abbauprodukte zu kennen, denn praktisch alle Barbitale unterliegen im lebenden Organismus verschiedenen Stoffwechseleränderungen. Obwohl verschiedene Barbitale bereits mehrere Jahrzehnte klinisch in großem Umfang verwendet werden, beginnen erst seit einigen Jahren Abbauprodukte dieser Schlafmittel bekannt zu werden. Über Fäulnisveränderungen der Barbitale und ihrer Stoffwechselprodukte ist so gut wie nichts bekannt. Nur wenige Autoren befaßten sich mit dieser Frage (KOHN-ABREST u. Mitarb., SPECHT u. KOOTZ).

Der intravitale Abbau der Barbitale

Zahlreiche Untersuchungsergebnisse, vor allem aus den letzten Jahren über den Barbital-Stoffwechsel rechtfertigen eine zusammenfassende Darstellung der bisherigen Ergebnisse. Das letzte Übersichtsreferat stammt von RAVENTÓS (1954), während MAYNERT u. VAN DYKE (1949) den damaligen Stand der Forschung ausführlich gewürdigt haben. Ältere Literatur bei LUNDY u. OSTERBERG (1929) und TATUM (1939). Pharmakologie und Klinik bei DONATELLI (1954).

Die einzelnen Barbitale, ihre wichtigsten Handelsnamen im In- und Ausland, Schmelzpunkte, chemische Strukturformeln, Hauptstoffwechselprodukte und Ausscheidungsverhältnisse werden übersichtlich in einer Tabelle S. 97—104 gebracht.

Von der chemischen Struktur der Barbitale hängt die Stärke der narkotischen Wirkung ebenso ab wie die Art und das Ausmaß der Stoffwechseleränderungen. Aus beiden Faktoren ergibt sich die klinische Einstufung in „lang-“, „mittel-“, „kurz-“ und „ultrakurz-“ wirkende Barbitale. Während die unsubstituierte Barbitursäure narkotisch unwirksam ist und auch die am C₅-Atom monosubstituierte Säure kaum schlafmachend wirkt, sind die am C₅-Atom des Malonylharnstoffringes disubstituierten Barbitale starke Narkotica. Mit steigender Kettenlänge (bis zu 4 C-Atomen) wird auch die Wirkung stärker. Bei den langwirkenden Barbitalen wird durch *eine* therapeutische Dosis ein Blutspiegel über viele Stunden erzeugt (der z. B. beim Luminal erst nach 12 Std seinen Höhepunkt erreichen soll, wie KÖRPANYI festgestellt hat), bei den Barbitalen mit mittlerer Wirkung wird der Blutspiegel nur mehrere Stunden aufrechterhalten, während bei den kurzwirkenden Präparaten kaum 1 Std Blutkonzentration und Wirkung vorhanden sind und schließlich bei den ultrakurzwirkenden

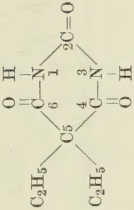
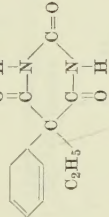
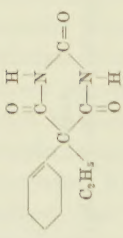
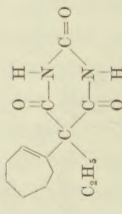
Handels- präparat	Konstitution	Fp	Harnausscheidungsprodukt	Fp	Menge	Zeit	Bemerkungen
Veronal		176 (IV) 181 (III) 183 (II) 188 (I)	unverändert	70—90 %	70—90 % Mensch	5—7 Tage und länger	
Veronal-Natr.	5,5-Diäthylbarbitursäure						
Medinal			als Veronal		70—90 % (Mensch)	5—7 Tage und länger	
Luminal		155 (V) 157 (IV)	teils unverändert teils als 5-Äthyl-5-(p-hydroxy-phenyl)-barbitursäure		10—15 % (Mensch)	5 Tage und länger	
Phenobarbital		160 (III)		225—226	10—20 % (Mensch)		
Phenobarbitone		167 (II)			(nach BUTLER LER 1954, CURRY 1955)		
Phenemal		175 (I)					
Gardenal	5,5-Phenyläthylbarbitursäure						
Sevinal							
Luminal-Natr.			wie Luminal				
Prominal		179	teils unverändert		4 % (Mensch) (nach BUTLER und BUSH 1939) <1 % (Hund) (nach BUTLER LER 1952)	5 Tage und länger	
Mebaral							
Phemitone					20 % (nach BUTLER LER 1952)		
Mephobarbital	5,5-Phenyl-1-methyl-barbitursäure		teils als Luminal				

Tabelle 1 (Fortsetzung)

Handelspräparat	Konstitution	Fp.	Harnausscheidungsprodukt	Fp.	Menge	Zeit	Bemerkungen
Phanodorm Cyclobarbital Ethylhexabital	 5,5-Cyclohexenyl-äthylbarbitursäure	173	teils unverändert teils als Cyclohexenonyläthylbarbitursäure	221—222 (Mensch) (nach HALBERKANN und REICHE)	2—6% 8—18% Beim Kaninchennur (44%) umgewandelt (nach TSUKAMOTO u. a. 1955)	2—3 Tage 2—3 Tage	
Phanodorm-Calcium							
Evipan Evipal Hexobarbital Hexabital	 5-Cyclohexenyl-1,5-dimethylbarbitursäure	146	teils unverändert, teils als 5-Cyclohexenonylmethylbarbitursäure	214—218 (nach WEISE) 5—6% (nach Bush u. a.) (Hund)	0,1—0,2% ? 2,3—2,8% 5—6% (weiterhin Spuren zweier Keto-produkte Fp 141—142; 162—164)	höchstens 24 Std ?	
Evipan-Natr. Medomin	 5,5-Cycloheptenyl-äthylbarbitursäure	174	als Cycloheptenonyläthylbarbitursäure	221	0,4% (Mensch) 4% (Kaninchen) (nach PULVER)	höchstens 24 Std	

Eumaron	$\begin{array}{c} \text{O} \quad \text{CH}_3 \\ \parallel \quad \\ \text{CH}_2=\text{CBr}-\text{CH}_2-\text{C}-\text{N} \\ \quad \quad \quad \quad \\ \text{CH}_3 \quad \quad \text{CH} \quad \quad \text{C}=\text{O} \\ \quad \quad \\ \text{CH}_3 \quad \quad \text{O} \quad \text{H} \end{array}$	107—109	wie Noctal?		
Sandoptal Allobarbital	$\begin{array}{c} \text{O} \quad \text{H} \\ \parallel \quad \\ \text{CH}_2=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{C}=\text{N} \\ \quad \quad \quad \quad \\ \text{CH}_3-\text{CH}-\text{CH}_2-\text{C}=\text{N} \\ \quad \quad \\ \text{CH}_3 \quad \quad \text{O} \quad \text{H} \end{array}$	138—139		20—25 % (Mensch) (nach KAISER 1932)	3—4 Tage nur noch in Optalidon ¹ u. Profundol ¹ verwendet
Dormovit	$\begin{array}{c} \text{H} \quad \text{CH} \\ \quad \parallel \\ \text{H} \text{C}-\text{O}-\text{C}-\text{CH}_2 \\ \quad \quad \quad \quad \\ \text{CH}_3 \quad \quad \text{CH} \quad \quad \text{C}=\text{O} \\ \quad \quad \\ \text{CH}_3 \quad \quad \text{O} \quad \text{H} \end{array}$	172	unverändert	2—3 % (nach FREY- WURST)	2—3 Tage nicht mehr im Handel
Butisol Butabarital Neravan	$\begin{array}{c} \text{H} \quad \text{CH} \\ \quad \parallel \\ \text{H} \text{C}-\text{O}-\text{C}-\text{CH}_2 \\ \quad \quad \quad \quad \\ \text{CH}_3 \quad \quad \text{CH} \quad \quad \text{C}=\text{O} \\ \quad \quad \\ \text{CH}_3 \quad \quad \text{O} \quad \text{H} \end{array}$	168—170	teils unverändert teils als Butabarital-carboxyl- säure	3—5 % 29—35 % (Hund) (nach MAY- NERT u. LOSIN 1955)	in Tridomal ¹ und Tri- somin ¹ 48 Std
	5,5-Furfuryl-isopropylbarbitur- säure				

¹ Kombinationspräparate

Tabelle 1 (Fortsetzung)

<i>Handels- präparat</i>	<i>Konstitution</i>	<i>Fp.</i>	<i>Harnausscheidungsprodukt</i>	<i>Fp.</i>	<i>Menge</i>	<i>Zeit</i>	<i>Bemerkungen</i>
Cyclopal	5,5-Cyclopentenylallyl-barbitursäure	140—143					
Delvinal Vinbarbital	5,5-Äthyl-1-methyl-1-but- enyl-barbitursäure	162—163					
Ipral Probarbital	5,5-Äthyl-isopropylbarbitur- säure	200—203					
Neonal Butethal Soneryl	5,5-n-Butyl-äthylbarbitur- säure	127—130	als 5-Äthyl-5(3-hydroxybutyl)- barbitursäure	152—153	10—20% (Hund) (nach MAY- NERT 1951)		
Ortal Hexethal	5,5-Äthyl-n-hexylbarbitur- säure	122—125					
Rutonal	5,5-Methyl-phenylbarbitur- säure	220—223	unverändert		25%		
Seconal	5,5-Allyl-1-methylbutyl- barbitursäure	96—100	schnell abgebaut				in Tridomalt und Tri- somin ¹
Sigmodal <i>Rectidon</i>	5,5-sec-Amyl- β -bromallyl- barbitursäure	169—171					
Vesperone	5,5-Amyl- β -allylbarbitursäure						in Tempi- dorm ¹
Nor-Evipal	5,5-Allyl-bromallylbarbitur- säure	172					
	5-(1-Cyclohexen-1-yl)- 5-methylbarbitursäure	208—214	teils unverändert teils als „Keto-Nor-Evipal“	214—219	13% 20% (nach BUSH, BUTLER u. DICKSON 1953)		
<i>Rectidon</i>	5,5-Isomyl- β -bromallyl- barbitursäure	162—163					nicht in Tabletten

Dormin	5,5-Äthyl-allylbarbitursäure	160			
Eldoral	5,5-Piperidino-äthylbarbitursäure	217			
Gemonil Metharbital	5,5-Diäthyl-1-methylbarbitursäure	154—155	als 5,5-Diäthylbarbitursäure	70—90% (Hund) (nach BUTLER)	in 24 Std 50% im Plasma de- methyliert in der DDR neu
Kalypnon	5,5-Äthyl-crotylbarbitursäure	116—118			
Thiobarbiturate					
Trapanal	$\begin{array}{c} \text{CH}_3-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH} \\ \quad \quad \quad \\ \text{CH}_2 \quad \text{O} \quad \text{H} \\ \quad \quad \\ \text{C}-\text{N}=\text{C} \\ \quad \\ \text{C}-\text{N}=\text{C} \\ \quad \\ \text{C}_2\text{H}_5 \quad \text{O} \\ \\ \text{C}=\text{O} \end{array}$	158—159 (freie Säure)	teils unverändert teils als Trapanalcarboxylsäure	0,3% 10—25% 192—193 (II) (nach BRODIE 1952)	2—3 Tage
Kemithal Thialbarbitone	$\begin{array}{c} \text{5-Äthyl-5-(1-methylbutyl)-} \\ \text{2-thiobarbitursäures Natrium} \\ \text{CH}_2=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{C} \begin{array}{c} \diagup \text{C}=\text{O} \diagdown \\ \quad \\ \text{C}=\text{N} \quad \text{C}=\text{N} \\ \quad \\ \text{C}-\text{N}=\text{C} \\ \quad \\ \text{C}_2\text{H}_5 \quad \text{O} \end{array} \end{array}$		als Thiobarbitursäure-derivat	Spuren (nach CARRINGTON und RAYNÉ 1946)	24 Std
Inactin	$\begin{array}{c} \text{5,5-Cyclohexenyl-allyl-2-thio-} \\ \text{barbitursäures Natrium} \\ \text{CH}_3-\text{CH}_2-\text{CH} \begin{array}{c} \diagup \text{C}=\text{O} \diagdown \\ \quad \\ \text{C}=\text{N} \quad \text{C}=\text{N} \\ \quad \\ \text{C}-\text{N}=\text{C} \\ \quad \\ \text{C}_2\text{H}_5 \quad \text{O} \end{array} \end{array}$	162—163 (freie Säure)			
	$\begin{array}{c} \text{5-Äthyl-5-(1-methylpropyl)-} \\ \text{2-thiobarbitursäures Natrium} \\ \text{CH}_3-\text{CH}_2-\text{CH} \begin{array}{c} \diagup \text{C}=\text{O} \diagdown \\ \quad \\ \text{C}=\text{N} \quad \text{C}=\text{N} \\ \quad \\ \text{C}-\text{N}=\text{C} \\ \quad \\ \text{C}_2\text{H}_5 \quad \text{O} \end{array} \end{array}$				

Tabelle 1 (Fortsetzung)

<i>Hauptsache, präparat</i>	<i>Konstitution</i>	<i>Fp.</i>	<i>Harnausscheidungsprodukt</i>	<i>Fp.</i>	<i>Menge</i>	<i>Zeit</i>	<i>Bemerkungen</i>
Thiobarbital Thiobarbitone	$ \begin{array}{c} \text{O} \quad \text{H} \\ \parallel \quad \diagup \\ \text{C}_2\text{H}_5 \quad \text{C} \quad \text{N} \\ \diagdown \quad \diagup \\ \text{C} \quad \text{C} \quad \text{N} \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{C}_2\text{H}_5 \quad \text{O} \quad \text{C-SNa} \end{array} $		beim Hund weder unverändert noch als Veronal aufgefunden (nach BUSH u. BUTLER)		20% 10% (nach RA- VENTOS 1954)		
Thiophenobarbital Thiophenobarbitone	5,5-Diäthyl-2-thiobarbitursaures Natrium		teils unverändert teils als Veronal				
Thiophenobarbital Thiophenobarbitone	5,5-Phenyläthyl-2-thiobarbitursaures Natrium		teils unverändert teils als Luminal		15% 35% (nach RA- VENTOS 1954)		
Thiethamyl Thiamylal Sodium	5-Äthyl-5-isoamyl-2-thiobarbitursaures Natrium						
Thiogenal	5-Methylthioäthyl-5-(1-methylbutyl)-2-thiobarbitursaures Natrium	152–154 (freie Säure)					
Baytinal	5-Allyl-5-(1-methylpropyl)-2-thiobarbitursaures Natrium	143–147 (freie Säure)	unverändert?		5% (Hunde) (nach WIESE u. KOSS 1954)		
Surital	5-Allyl-5-(1-methylbutyl)-2-thiobarbitursaures Natrium						
Thionarcon	5-Äthyl-5-butylthiomethyl-2-thiobarbitursaures Natrium						

Mitteln durch schnelle Barbitursäurespeicherung im Fettgewebe nur noch minutenlange Narkose zu erreichen ist¹.

Aber nur vom Blutspiegel des *unveränderten* Barbitals ist die Wirkung abhängig. Oxydationsprodukte sind trotz der verhältnismäßig geringen Molekülveränderung praktisch unwirksam. Zu den *langwirkenden* Barbitalen zählen Veronal, Luminal, Prominal. *Mittlere* Wirkung haben unter anderem Sandoptal, Stadadorm, Numal, Dial, Pernocton, Noctal, Butabarbitol. Es folgen die *kurzwirkenden* Barbitale (Phanodorm, Medomin, Nembutal, Seconal) und die *ultrakurzwirkenden*, bei denen es sich außer Evipan und Eumarcon um Thiobarbiturate (Trapanal, Inactin, Thiogenal, Surital) handelt. Die Vorteile der verschiedenen Wirkungsdauer sucht man neuerdings durch sog. Stufenschlafmittel zu nutzen, die je ein lang-, mittel- und kurzwirkendes Präparat in verhältnismäßig geringer Dosis enthalten und nacheinander zur Wirkung gelangen sollen (z. B. Trisomnin, Tridomal).

Der Blutspiegel wird durch folgende Faktoren beeinflusst:

1. Durch die Resorptionsgeschwindigkeit (z. B. PAULUS).
2. Wasser- und Fettlöslichkeit der Substanz. Da die alkyl- und arylsubstituierte freie Barbitursäure schlecht wasserlöslich ist, erfolgt die Ausscheidung durch die Niere nur langsam.

3. Große Affinität zum Fettgewebe bei den Thiobarbituraten (SHIDEMAN u. Mitarb.). Das Konzentrationsverhältnis kann nach Stunden bereits bei Fettgewebe und Plasma wie 100:1 sein! Für nicht sulfurierte Barbiturate ist eine besondere Abwanderung ins Fettgewebe nicht erwiesen.

4. Molekülveränderungen durch den Stoffwechsel.

Als Ursache für den Wirkungsverlust der Oxydationsprodukte wird deren bessere Wasserlöslichkeit angesehen, so daß es nicht zu einer Anreicherung in den Lipoiden der Nervenzellen kommen soll. Aber bis heute konnte der pharmakologische Wirkungsmechanismus der Barbiturate nicht eindeutig geklärt werden, so daß auch bei der Deutung der Wirkungsauflösung Vorsicht walten muß. Dies gilt nicht nur für den Stoffwechselabbau der Barbiturate, sondern auch für „Antagonisten“, wie z. B. Methyläthylglutarsäureimid, das intravenös gegeben rasches Erwachen trotz hohem Barbitursäure-Blutspiegel bewirken kann.

Historischer Überblick. Seit der Synthese des Malonylharnstoffes durch A. v. BAEYER im Jahre 1863 (er nannte die Substanz Barbitursäure „nach einer von ihm damals besonders verehrten Barbara“, wie H. LUDWIG berichtet) vergingen fast 20 Jahre, bis Veronal erstmals hergestellt wurde und 40 Jahre, bis es durch FISCHER u. v. MERING in die Therapie eingeführt wurde (1903). 1912 folgte Luminal, und in den letzten 40 Jahren haben sich mehr als 30 Barbiturate nach und nach eingebürgert. Obwohl diese neuen Schlafmittel ausgedehnte Verwendung

¹ GOODMAN und GILMAN nennen folgende zeitlichen Grenzen: „lang“ über 6 Std.; „mittel“ 3–6 Std.; „kurz“ 1–3 Std.; „ultrakurz“ unter 1 Std.

fanden, blieb das Stoffwechselschicksal der meisten von ihnen bis in die letzten Jahre hinein unerforscht. Bei Veronal fand man die unveränderte Substanz fast vollständig im Urin wieder, aber alle anderen Barbiturate wiesen ein mehr oder weniger großes Ausscheidungsdefizit auf. 1927 fanden HALBERKANN u. REICHE das erste im Stoffwechsel unveränderte Ausscheidungsprodukt eines Barbiturats, nämlich nach Noctalaufnahme 5,5 Isopropylacetylbarbitursäure. HALBERKANN u. FRETWURST (Hamburg) haben in den folgenden Jahren auch weitere Oxydationsprodukte von Phanodorm, Pernocton, Numal und Dormovit (s. Tabelle) gefunden. Viele Jahre später wurden weitere Beiträge zu diesem Problem unter anderem von BUTLER u. BUSH, MAYNERT u. VAN DYKE, BRODIE und RAVENTÓS geliefert.

Erst 1954 fand z. B. BUTLER ein Oxydationsprodukt des Luminals, und 1957 wurde von GOLDSCHMIDT u. Mitarb. über Oxydationsprodukte von Veronal berichtet, die in Spuren entdeckt worden waren. Ohne Zweifel hängt es mit der Schwierigkeit des Nachweises zusammen, daß erst jetzt mit Hilfe moderner Methoden experimentelle Beiträge zu diesem Problem geliefert wurden. Die Nachweistchnik soll daher besonders gewürdigt werden (s. S. 124ff.).

Nach dem jetzigen Stand der Forschung ergibt sich folgendes Bild über intravitale Abbaumöglichkeiten der Barbitale (zum Teil nach RAVENTÓS) und über die unverändert zur Ausscheidung gelangenden Restmengen.

RAVENTÓS nennt 4 Arten von Abbaureaktionen:

- a) Oxydation von Substituenten am C₅-Atom mit Bildung von Keto-, Hydroxy- und Carboxybarbitursäuren;
- b) Verluste von N-Alkyl-Radikalen;
- c) Entschwefelung von Thiobarbituraten;
- d) hydrolytische Öffnung des Barbitursäurerings.

Diese Einteilung kann wie folgt nach zum Teil eigenen Ergebnissen erweitert werden (Fragezeichen besagen, daß die Angaben unsicher oder hypothetisch sind):

Unverändert werden ausgeschieden (in Prozent der aufgenommenen Menge):

1. Veronal	fast 100	12. Dormovit	2—3
2. Dial	27—31	13. Prominal	1—4
3. Rutonal	25	14. Noctal	1—3
4. Sandoptal	20—25 ?	15. Evipan	Spuren bis 2,8 ?
5. Numal	13—24	16. Kemithal	2,15 ?
6. Thioveronal	20 ?	17. Pernocton	0,1—0,5
7. Thioluminal	15 ?	18. Thiopental	0,3
8. Luminal	10—15	19. Medomin	Spuren
9. Nor-Evipan	13	20. Vesperone	Spuren
10. Phanodorm	2—6	21. Stadadorm	Spuren
11. Butabarbital	3—5		

Verlust des Schwefels führt

bei Thiopental zu ?

bei Kemithal zu 2,7 ? Cyclohexenylallylbarbitursäure

bei Thioveronal zu 10 Veronal

bei Thioluminal zu 35 Luminal

Hydrolytischer Bromverlust tritt ein bei

Noctal	Rectidon ?
Pernocton	Sigmodal ?
Eunarcon ?	Vesperone

Keto-Derivate entstehen teils durch hydrolytische Bromabspaltung, teils durch Oxydation am sekundären C-Atom des C₅-Radikals:

Evipan	Vesperone ?
Kemithal	Eunarcon ?
Medomin	Cyclopal ?
Noctal	Sigmodal ?
Pernocton	Rectidon ?
Phanodorm	

Hydroxy-Derivate werden durch Oxydation am sekundären oder tertiären C-Atom eines C₅-Radikals gebildet bei

Neonal	Stadadorm
Luminal	Rutonal ?
Pentobarbital (Nembutal)	Evipan ?

Carboxylderivate entstehen durch Oxydation am endständigen C-Atom eines C₅-Radikals bei

Butabarbital, Pentothal (Trapanal), Seconal ?

N-Alkyl-Verlust: Evipan, Gemonil, Narconumal, Prominal, Eunarcon ?

Es sei ausdrücklich erwähnt, daß es sich bei den vorstehenden Angaben größtenteils um *Ergebnisse aus Tierversuchen* handelt.

Die Öffnung des Barbitursäurerings und Zerfall des Moleküls in mehrere Bruchstücke wurde schon frühzeitig angenommen (KÖNIG u. KLUGE) und inzwischen auch intra vitam nachgewiesen. Allerdings scheinen nicht große Bruchstücke zu entstehen, wie es bei der alkalischen Hydrolyse der Barbitursäure in vitro (s. S. 116) der Fall ist, sondern der Abbau scheint bis zu CO₂ und NH₃ weiterzugehen. Bereits wenige Minuten nach intravenöser Verabreichung von mehreren Barbituraten mit unterschiedlicher Wirkungsdauer wurden Spuren der radioaktiv markierten Präparate als CO₂ in der Ausatemungsluft gefunden (BLOCK u. EBIGT), *aber nur bis zu 1% der Gesamtmenge injizierter Radioaktivität*.

Auch nach anderen Autoren scheint die Ringspaltung für den Barbiturat-Abbau von untergeordneter Bedeutung zu sein (VAN DYKE, SCUDI u. TABERN; MAYNERT u. VAN DYKE; TAYLOR, RICHARDS u. TABERN; ROTH, LEIFER, HOGNESS u. LANGHAM).

Bei gerichtlichen Fällen wird man demnach mit einer Nachweismöglichkeit von Ringspaltstücken als Metaboliten kaum zu rechnen haben.

Die Verhältniszahlen in den obigen Tabellen sind als grobe Rahmenziffern zu betrachten. *Im Einzelfalle hängt die jeweilige Ausscheidungsquote beim Menschen — abgesehen vom verwendeten Präparat — von der Applikationsart, der Gewöhnung, der Gesamtstoffwechselleistung und der durch die Größe der Barbiturat-Dosis stark beeinflussten Stoffwechselintegrität des Körpers ab.*

Im folgenden seien einzelne wichtige Untersuchungsergebnisse hierzu referiert:

Veronal bildet unter allen gebräuchlichen Barbituraten eine Ausnahme, als es praktisch unverändert¹ und fast 100%ig wieder ausgeschieden wird. 70–90% finden sich im Urin, geringe Mengen im Kot und im Schweiß, bzw. den Hautausscheidungen (Epithelien, Talg, Haare) (WEINIG u. JAHN, WEINIG u. SCHMIDT, PAULUS). Da die Niere bei Veronal die Hauptentgiftungsleistung zu vollbringen hat, ist es verständlich, daß Störungen der Nierenfunktion bereits nach narkotischen Veronaldosen zum Tode führen können. Bei experimenteller Nephritis (durch Kaliumchromat, Weinsäure oder Uranylacetat) konnte die Veronalausscheidung stark vermindert werden (MURPHY, KOPFANYI). Bei Total-Nephrektomie ist die Überlebenszeit nach Veronalgabe stark verkürzt (MASSON u. BELAND, HIRSCHFELDER u. HAURY). Nach den gleichen Autoren ist auch für die Entgiftung des Körpers nach Luminalaufnahme die Nierenfunktion notwendig. Wahrscheinlich trifft dies auch für alle anderen Barbitale zu, die mit dem Harn bis zu einem gewissen Prozentsatz unverändert ausgeschieden werden. Die übrigen Mittel, die nur in Spuren oder überhaupt nicht unverändert im Harn nachweisbar sind, brauchen eine funktionstüchtige Leber als wichtigstes Organ für ihre „Entgiftung“. Leberschäden durch Chloroform, Tetrachlorkohlenstoff oder Phosphor ergeben ein starkes Anwachsen der Schädlichkeit von Stadodorm, Nembutal und Evipan, wie CAMERON u. DE SARAN; KELLY u. SHIDEMAN; MARTIN, HERRLICH u. CLARK; PRATT u. Mitarb. sowie TATUM, NELSON u. KOZELKA zeigen konnten. Die letztgenannten Autoren wiesen darauf hin, daß in der geschädigten Leber eine ungewöhnlich große Menge Amytal zurückbehalten wird, so daß sich durch die verzögerte Entgiftung schließlich eine Nachweismöglichkeit ergab, *insofern, als man bei krankhaft veränderter Leber eine bessere Aussicht hat, Schlafmittel nachweisen zu können*. Auch TSUKAMOTO u. Mitarb. fanden bei Ratten, die sonst kein unverändertes Phanodorm ausschieden, nach 50%iger Hepatektomie das Auftreten von Phanodorm im Harn. *Diese Tatsache hat für die japanische Toxikologie besondere Bedeutung*. Die Niere ist dagegen bei solchen Barbitalen von geringerer Bedeutung, die in der Leber abgebaut werden. HIRSCHFELDER u. HAURY konnten nach Nephrektomie keinen Wirkungswandel von Dial, Neonat und Phanodorm sehen. Andererseits glauben MASSON u. BELAND, daß die Niere an der Entgiftung von Dial, Neonat, Phanodorm und Delvinal neben der Leber beteiligt ist. In vitro-Versuche von MARTIN, HERRLICH u. CLARK hatten zum Ergebnis, daß der Abbau von Evipan hauptsächlich durch die Leber, in geringerem Maße aber auch durch Skelettmuskulatur und Milz erfolgt, während Niere, Gehirn und sauerstoffreiches Blut keine Wirkung hatten.

COOPER u. BRODIE fanden 1954 bei Versuchen mit Leberschnitten zugesetztes Evipan, zum Teil umgewandelt als Keto Evipan, WINTERS, SPECTOR, WALLACH u. SHIDEMAN konnten 1955 mit ähnlicher Technik aus Thiopental das schwefelfreie analoge Pentobarbital nachweisen.

TAKABAYAKE führte 1955 ähnliche Versuche durch. Seine Methodik sei als Beispiel für die Arbeitstechnik zur Erzielung einer sog. Biotransformation von Barbitalen geschildert, vor allem, weil dieser japanische Autor sich mit dem in Deutschland wohl am meisten verwendeten Phanodorm befaßte.

500 mg Leberschnitte von weiblichen Ratten wurden in 50 ml-Erlenmeyer-Kolben unter Verschuß mit verschiedenen Mengen Phanodorm in eine Lösung von insgesamt 10 ml Krebs-Ringer-Phosphatpuffer (pH 7.4) gebracht, mit O₂ gesättigt und mit 0,2% Glucose versetzt. Die Ansätze wurden in einer Warburg-Apparatur bei 38° für $\frac{3}{4}$ –6 Std geschüttelt mit einer Frequenz von etwa 120/min. Sauerstoff wurde zu Beginn der Inkubation 1 min lang durchgeblasen. Nach der

¹ Siehe GOLDSCHMIDT u. WEHR (1957), S. 134.

Inkubation wurden die Kölbchen 5 min lang in ein kochendes Wasserbad eingetaucht und dadurch der Fermentinhalt inaktiviert. Dann wurde angesäuert, mit Äther extrahiert, der Abdampfungsrückstand papierchromatographiert und die getrennten Substanzen eluiert und bei den für Barbiturat typischen Wellenlängen spektrophotometrisch gemessen. Die analytische Ausbeute soll bei der verwendeten Methodik 90% betragen. TAKABATAKE konnte aus seinen Ansätzen mit steigenden Inkubationszeiten steigende Mengen des Phanodorm-Umwandlungsproduktes („3-Ketophanodorm“)¹ nachweisen. Wenn 500 γ Phanodorm zugesetzt worden waren verteilen sich die Mengen wie folgt:

Tabelle 2

Inkubationszeit in Std	Phanodormausbeute in γ	Keto-Phanodorm in γ
0,75	416	56
1,5	367	83
3	271	104
6	246	137
3 ¹	439	0

Die Versuche zeigen, daß die Leber Phanodorm in verhältnismäßig kurzer Zeit auch *in vitro* zu oxydieren vermag. Bei gleichbleibender Zeit von 3 Std für die Inkubation war die Ausbeute des Keto-Produktes proportional den zugesetzten Phanodormmengen (zwischen 256 und 625 γ ansteigend) von 51—123 γ .

Für die Frage der postmortalen Abbauvorgänge sind derartige Untersuchungen nicht ohne Bedeutung, denn es zeigt sich, daß offenbar auch nach dem Tode bis zur autolytischen Gewebszersetzung fermentative Vorgänge, „supravitale Reaktionen“ weiterlaufen und zu einer Veränderung der Giftkonzentration führen können.

¹ Der letzte Ansatz wurde 3 Std inkubiert, war aber vorher in ein kochendes Wasserbad getaucht worden.

Versuche über den Abbau von Barbitalen *in vitro* von DOREMAN u. GOLDBAUM (1947) mit Gewebsmaterial ergaben, daß die Leber in der Lage ist, den Malonylharnstoffring aufzubrechen. Die Geschwindigkeit mit der das geschieht, hängt von der Seitenkette ab. Kaninchenleberschnitte bauen Pentothal, Seconal, Amytal, Pentobarbital und in geringem Ausmaß auch Numal ab. Leberbrei zeigte weniger Aktivität als Leberschnitte, während homogenisierte Leber keinen Effekt hatte. Das einzige Barbiturat, das auch durch Nierenschnitte und in geringem Umfang auch durch Gehirn abgebaut wurde, war Pentothal. Daraus wurde geschlossen, daß die Leber in der Lage ist, sowohl Barbitursäure- als auch Thiobarbitursäureringe aufzuspalten, während die Niere nur Thiobarbitursäuren aufspalten kann. Muskel- und Gehirnbrei konnten keines der angewendeten Barbiturate abbauen. Über die Art des Abbaues wurde von den Autoren keine Aussage gemacht. Die Beobachtungen stimmen mit einer Angabe von MOUSEL u. LUNDY (zit. DOREMAN u. GOLDBAUM) überein, daß bei Lebercirrhose eine verstärkte Thiopental-Narkose zu beobachten ist. Im allgemeinen kann aber offenbar die Niere die Tätigkeit der Leber übernehmen, was manche Untersucher zu dem falschen Ergebnis gebracht hat, die Leber könne kein Thiopental abbauen.

Evipan wird zum größten Teil in noch unbekannter Weise abgebaut. Zur Ausscheidung gelangen bei Hunden nach einmaliger narkotischer Dosis mindestens 4 Substanzen (BUSH, BUTLER u. DICKISON): Spuren unveränderten Evipans, 0,2% 5-Cyclohexenyl-5-methyl-barbitursäure, etwa 1,5% 5-Ketohexenyl-5,1-dimethyl-barbitursäure und etwa 0,6% 5-Ketohexenyl-5,1-dimethylbarbitursäure (vermutlich Isomeres).

TOCHINO dagegen nimmt an, daß es sich nicht nur um Ketoprodukte handelt, sondern auch um Hydroxyderivate. Er benutzte allerdings Kaninchen und reicherte die Substanzen durch fortgesetzte intravenöse Injektionen an (10—40 mg Evipan je

¹ Siehe S. 112.

Kilogramm), die jeweils beim Erwachen des Tieres aus der vorausgegangenen Nar-kose gegeben wurden. Er fand als Hauptstoffwechselprodukte 5-Cyclohexenolyl-1,5-dimethylbarbitursäure und das entsprechende Ketoderivat, machte aber keine Angaben über Ausscheidungsquoten. Mit jeder Injektion stieg der Blutspiegel des Cyclohexenolyl-Derivates (bis auf etwa 14 mg-% nach der 8. Dosis), während der Evipanblutspiegel fast konstant geblieben war (3—4 mg-%).

TOCHINO führt das Versagen von Leberhomogenisat bei Barbitursäureabbauversuchen darauf zurück, daß das Cytochrom-c-Cytochromoxydasesystem hier gestört und dadurch eine „Evipan-Hydroxylase“ gehemmt wird. Nach Zusatz von KCN zum Reaktionsansatz, wodurch eine Hemmung der Cytochromoxydase erzielt wurde, konnte das Leberhomogenisat 5mal soviel Evipan hydroxylieren als vorher.

Einen weiteren Einblick in mögliche Reaktionsabläufe gibt die Tatsache, daß Ascorbinsäure in der Lage ist, Oxydationen an aromatischen Kernen durchzuführen, die zu den gleichen Produkten führen, wie sie bei biologischen Oxydationen auftreten. BRODIE, AXELROD, SHORE u. UDENFRIED fanden, daß mit Hilfe eines Reaktionsansatzes von Ascorbinsäure, Eisen-II-Ionen, Äthylendiamintetraessigsäure und Substrat Hydroxylierungen bei Acetanilid, Anilin, Salicylsäure, Antipyrin, Acetphenetidin, Theophyllin, Chinolin und Tyramin zu erzielen waren. Nach 2 Std bei 37° in der Schüttelapparatur in O₂-Atmosphäre waren 3—30% umgewandelt. TOCHINO wandte dieses Ascorbinsäuremodell-Oxydations-System auf Barbitale an und fand bei Evipan die gleichen Umwandlungsprodukte (Cyclohexenolyl- bzw. Cyclohexenolyldimethylbarb.) wie bei der biologischen Transformation. Der gleiche Autor beobachtete auch, daß Ascorbinsäuremangel bei den Versuchstieren (Meerschweinchen) eine Verlängerung der Schlafzeit nach Barbitat-Verabreichung bewirkte. Tägliche Vitamin C-Gaben führten wieder zu Normalisierung der Barbitursäurewirkung. TOCHINO führt die längere Schlafzeit bei Vitamin C-Mangel auf die verminderte Stoffwechselleistung der Leber zurück, die durch Vitamin C-Mangel bedingt wird.

Der Abbau von Barbitalen scheint auch hiernach wiederum von dem Stoffwechselvermögen des Organismus, insonderheit der Leber, abzuhängen. Offenbar kommt bei ein und demselben Barbitat und bei der gleichen Tierart stets das gleiche Prinzip zur Wirkung, ein Mechanismus, der gesetzmäßig abläuft und die bisher bekannten Umwandlungsprodukte in etwa gleicher Menge liefert. TSUKAMOTO fand z. B. bei Kaninchen unabhängig von der Dosis nach einmaliger Verabreichung stets zwischen 41—48% der aufgenommenen Phanoform-Menge als 3-Keto-Phanoform wieder. Lediglich die Ausscheidungs^{dauer} richtete sich nach der aufgenommenen Menge: Bei 200 mg/kg war die Ausscheidung in 24 Std und bei 400 mg/kg in 48 Std beendet. Kaninchenleber hat eine besonders große Abbaufähigkeit für Barbitale und eignet sich deshalb besonders gut für derartige Untersuchungen. Auf die Verhältnisse beim Menschen lassen sich Tierversuche nur bedingt übertragen.

Von Luminal werden im Harn nur 10—15% unverändert innerhalb von mehreren Tagen ausgeschieden. Früher vermutete man, daß Luminal zum Teil als Phenyläthylacetylarnstoff ausgeschieden wird (KÖNIG u. KLUGE, KAISER) und überhaupt nicht unverändert im Harn erscheint (NOLTE). Später wurde Luminal in vielen Vergiftungsfallen nachgewiesen, häufig aber auch nicht erfaßt. Erst 1954 gelang es BETLER, beim Hund ein Oxydationsprodukt des Luminals, die p-Hydroxyphenyläthylbarbitursäure aufzufinden. Diese Substanz „Hydroxyluminal“, wurde bei einem Hund nach 3 Wochen dauernder täglicher Luminalverabreichung (Mengenangabe fehlt) aus dem Sammelharn in einer Gesamtmenge von 1,54 g isoliert, während im gleichen Versuch nur 0,29 g unverändertes Luminal zu finden war. Die Substanz kommt hauptsächlich gebunden im Hunde-Urin vor und muß

erst durch Säurehydrolyse frei gemacht werden. Auffallend war bei dieser Beobachtung, daß es trotz zahlreicher Arbeiten und toxikologischer Analysen vorher noch keinem Untersucher gelungen war, diese Ausscheidungs-substanz zu finden, ebenso wenig wie Phenyläthylacetylarnstoff nach Luminal ausgeschieden und gefunden wurde.

CURRY (1955) stellte fest, daß im Leichenharn des Menschen die Hydroxyverbindung des Luminals in nicht gebundener Form vorliegt, während BUTLER (1956) beobachtete, daß beim Hund das Ausscheidungsprodukt vorwiegend als Glucuronid gebunden, beim Menschen aber nur teilweise gebunden, und zwar mehr als Sulfat, weniger als Glucuronid vorliegt. Die Ausscheidung dauert mehrere Tage. Hydroxyluminal ist pharmakologisch in Dosen bis zu 1 g/kg unwirksam. BUTLER betont, daß man der Hydroxylierung größte Bedeutung für die Entgiftung von Luminal zuerkennen müsse. ALGERI u. MCBAY haben 1956 ebenfalls dieses Hydroxy-Produkt in Luminalvergiftungsfällen beim Menschen beobachtet. Auch SEIFERT gibt einen Hinweis auf Luminalausscheidungs-substanzen, jedoch ohne den Versuch einer näheren Charakterisierung (s. hierzu unsere Erfahrungen S. 136).

BUTLER hat mit synthetischem Hydroxyluminal Versuche über die Verweildauer im Plasma eines Hundes gemacht, wobei sich herausstellte, daß nach schneller intravenöser Injektion eines Natriumsalzes von Hydroxyluminal (100 mg/kg) innerhalb einer Stunde die Plasmakonzentration von 57 mg/Liter auf 50 mg/Liter abgesunken ist. BUTLER nimmt an, daß Hydroxyluminal offenbar nur sehr langsam aus Luminal gebildet wird und eine viel kürzere Verweildauer im Plasma hat. Die von ihm gefundene Menge p-Hydroxyluminal war starken Schwankungen unterworfen. Bei einem Manne, der über längere Zeit hinweg täglich 0,29 g Luminal erhalten hatte, wurden 64 mg/Liter Hydroxyluminal im Urin gefunden. Darunter waren 49% frei und 51% an Schwefelsäure gebunden. Ein zweiter Mann hatte 10 Tage lang 0,6 g *Prominal* täglich erhalten, das sich nach Demethylierung im Organismus wie Luminal verhält (s. S. 97). Fünf Tage nach der letzten Prominalaufnahme enthielt der gesammelte Harn 210 mg/Liter Hydroxyluminal, darunter 46% frei und 54% als Sulfat. Zu der gleichen Zeit war die Plasmakonzentration an Luminal 40 mg/Liter. *Prominal* war nicht mehr festzustellen. Beim Hund dagegen wird kaum ungebundenes Hydroxyluminal ausgeschieden, nach Einwirkung von β -Glucuronidase können fast $\frac{2}{3}$ der durch Säurehydrolyse erzielbaren Gesamtmenge extrahiert werden. Hydroxyluminal ist also beim Hund vorwiegend an Glucuronsäure gebunden. Bei den 2 Vergiftungsfällen von ALGERI u. MCBAY war die ausgeschiedene Menge an Hydroxy-Substanz größer als die des unveränderten Luminals. BUTLER konnte keine Gesamtausscheidungsverhältnisse angeben, da die Urinproben nicht über genügend lange Zeit gesammelt worden waren. Bei dem Mann, der täglich 290 mg Luminal „über lange Zeit“ erhalten hatte, wurden in einer Probe des Sammelharnes 19 mg Luminal und 11 mg Hydroxyluminal gefunden. Bei drei weiblichen Hunden waren BUTLERS Ergebnisse sehr unterschiedlich. Sie werden in der Tabelle 3 gebracht, leider fehlt die Dosierung des Luminals.

Tabelle 3

Hund	Urin gesammelt	Unverändertes Luminal	Hydroxyluminal nach Hydrolyse
1	21 Tage	290 mg	1540 mg
2	21 Tage	250 mg	270 mg
3	7 Tage	24 mg	93 mg

1932 gelang es FRETWURST, HALBERKANN u. REICHE in Hamburg, ein Ausscheidungsprodukt von *Phanodorm* zu isolieren, nachdem sie bei Tierversuchen mit Hunden eine unbekannte Substanz entdeckt hatten. Sie konnten nachweisen, daß es sich um ein Ketoprodukt des *Phanodorms* handelte, das sie in Mengen von durch-

schnittlich 15% der aufgenommenen Phanodormdosis im Menschenharn wiederfinden konnten. Vier Kranke hatten 4 bzw. 5 g Phanodorm innerhalb von 10 Tagen bekommen. Die Gesamtausscheidung von unverändertem Phanodorm betrug zwischen 2,5 und 6,3%. Es wurden 24, 15, 15 und 13 Liter Harn aufgearbeitet. Leider haben die Autoren ihre Untersuchungstechnik nicht angegeben. Das Ausscheidungsprodukt konnte in Mengen zwischen 12,47 und 18,97% der aufgenommenen Phanodormdosis wiedergefunden werden. Hierbei wurden nach der letzten Phanodormaufnahme noch die Urinmengen der darauffolgenden 2 Tage mit verarbeitet. Die Ergebnisse zeigen eindeutig, daß Phanodorm bei intakter Stoffwechselleistung des Körpers und bei Einhaltung der TMD kaum kumuliert. Am 11. und 12. Tage sanken die Ausscheidungsmengen rasch ab. Während am 10. Tag noch zwischen 71 und 95 mg Keto-Phanodorm in der Harntagesmenge gefunden worden waren, belief sich die Ausbeute am 11. Tag bei den 4 Patienten auf Mengen zwischen 6 und 23 mg und am 12. Tag auf 2,5–8 mg.

FRETWURST, HALBERKANN u. REICHE gaben 1932 an, daß der Beweis für die chemische Konstitution des von ihnen entdeckten Phanodorm-Ausscheidungsproduktes noch ausstehe. Sie konnten aber bereits sagen, daß es sich vom Phanodorm durch den Übergang einer Methylengruppe in die Ketogruppe unterscheidet. Den Schmelzpunkt haben sie mit 220–222° angegeben, das Produkt sei weniger gut löslich (!) als Phanodorm und ließe sich an der Form seiner Kristalle, die sich unter anderem aus Wasser in farblosen, sechskantigen prismatischen Tafelchen abscheiden, erkennen. Sie betonten, daß der Nachweis dieses Ausscheidungsproduktes im Harn sicherer die Aufnahme von Phanodorm zu erkennen gestatte, als der Nachweis von Phanodorm selbst. Bei 2 Hunden fanden FRETWURST, HALBERKANN u. REICHE auch 6,2 und 5,35% des unveränderten Phanodorms wieder nach Verabreichung von etwa 10 g in 13 Tagen, während die Ausscheidungsquote des Phanodorm-Umwandlungsproduktes damals noch nicht festgelegt wurde. Die Konstitutionsaufklärung, d. h. die Zuordnung der Ketogruppe zu einer bestimmten Methylengruppe im Hexenylring, besorgten 1954 TSUKAMOTO, TAKABATAKE u. YOSHIMURA. Sie stellten durch Chromsaureoxydierung das Ketoprodukt aus Phanodorm her und stellten die Identität mit dem aus Tierharn gewonnenen Ausscheidungsprodukt eindeutig fest. Nach ihren Untersuchungen soll die Ketogruppe in α - β -Stellung angelegt sein (s. Tabelle 1). Wir übernehmen von TSUKAMOTO u. Mitarb. die Bezeichnung „3-Ketophanodorm“. In Tierversuchen mit Ratten und Kaninchen konnten 1955 TSUKAMOTO, TAKABATAKE u. ARIYOSHI feststellen, daß 44% des per Schlundsonde oder intraperitoneal zugeführten Phanodorms als 3-Ketophanodorm ausgeschieden wurden. Die Ausscheidung begann 3 Std nach der Aufnahme und war bei einer Verabreichung von 100–200 mg/kg Körpergewicht nach 24 Std, bei 400 mg/kg nach 48 Std beendet. Wurden die Tiere mit 3-Ketophanodorm gefüttert, so schieden sie bis zu 32% 3-Ketophanodorm wieder aus, der Verbleib des Restes blieb ungeklärt. Unverändertem Phanodorm konnte nach Verabreichung im Harn bei gesunden Tieren im Gegensatz zu FRETWURST, HALBERKANN u. REICHE nicht gefunden werden. Bei teilweise hepatektomierten Tieren trat auch unverändertes Phanodorm in der Harnausscheidung auf. Die Gesamtausscheidung war dabei vermindert.

BUTLER u. BUSH stellten 1939 fest, daß *Prominal* im Organismus zunächst demethyliert wird und dann vermutlich ähnliche Veränderungen wie das Luminal erfährt (S. 110). Sie konnten Luminal im Harn von Tieren nachweisen, die *Prominal* erhalten hatten. Auch Hydroxyluminal wird nach Aufnahme von *Prominal* gebildet, wie BUTLER (1956) nachweisen konnte. BUTLER, MAHAFFEE u. MAHAFFEE führten 1952 Versuche mit Ratten durch, wobei die Tiere partiell hepatektomiert wurden. Gegenüber den gesunden Vergleichstieren waren die Konzentrationen des

verabreichten Prominals im Plasma höher und die Demethylierung zu Luminal geringer. Auch bei Verabreichung von Luminal konnte eine Verzögerung der Ausscheidung festgestellt werden, da der Plasmaspiegel gegenüber den Kontrolltieren deutlich höher war. Die Umwandlung von Prominal in Luminal geschieht verhältnismäßig langsam, z. B. sind nach 5 Std die Plasmakonzentrationen bei gesunden Tieren von Prominal und Luminal 17 bzw. 8, nach 10 Std 8 bzw. 12 mg/Liter. Wurde statt Prominal etwa die gleiche Menge Luminal verabreicht, so waren im Plasma nach 5 Std 38 mg/Liter, nach 10 Std 28 mg/Liter zu finden. Ratten bauten Prominal nicht so vollständig um wie Hunde. Aus den erwähnten Versuchen schlossen BUTLER u. Mitarb., daß die Leber das hauptsächliche, wenn nicht das einzige Organ sei, das die Demethylierung von Prominal zuwege bringt.

Medomin ist erst in neuerer Zeit (FRITZSCHE, GROTE 1942) bekannt geworden, verhält sich ähnlich wie *Phanodorm* und ist relativ gefahrlos, da es ebenfalls schnell entgiftet, d. h. oxydiert wird. Von *Medomin* wird die große therapeutische Breite gerühmt, die bei der Ratte 1:40 ist, gegenüber 1:10 bei den Barbituraten mit 5- und 6-C-Ring-Substitutionen (PULVER). PULVER konnte im Harn kein unverändertes *Medomin* nachweisen. In Tierversuchen fand er 4,6% der zugeführten Menge als Umwandlungsprodukt, das analog dem *Phanodorm* lediglich eine Keto-Gruppe am Heptenylring enthielt. Die Substanz schmilzt bei 223°, also ebenso hoch wie das 3-Ketophanodorm. Beim Menschen scheint die Ausscheidung dieses Produktes noch geringer zu sein als beim Kaninchen. Nach 500 mg *Medomin* (einmalige Gabe) konnte PULVER aus 2 Liter Urin nur 2—3 mg des Ketoproduktes am ersten Tage ermitteln. KOPPANYI u. Mitarb. legten dar, daß *Medomin* für Kaninchen intravenös bei einmaliger Dosis von 120 mg/kg tödlich wirkt. Das vergleichsweise in entsprechender Dosis verwendete *Nembutal* war bei 40 mg/kg bereits tödlich!. Beim Kaninchen war *Medomin* ein ausgesprochen kurzwirkendes Barbiturat, während es beim Menschen und auch beim Hund wahrscheinlich doppelt so lange wirkt.

Als erster konnte MAYNERT (1952) ein Stoffwechselprodukt des *Stadadorms* auffinden. KOPPANYI u. KROP hatten festgestellt, daß nach Verabreichung von *Amytal* der Urin der Tiere narkotische Wirkung hatte. Dies konnte aber nur bei dem Vorhandensein größerer Ausscheidungsmengen eines intakten Barbitals auftreten. MAYNERT fand bei Tierversuchen im Urin durch Isolierung etwa 35—40% der aufgenommenen *Stadadorm*-Dosis als 5,5-Äthyl-(3-hydroxyisoamylbarbitursäure) wieder. Bei Isotopenversuchen konnte er allerdings feststellen, daß 67% der aufgenommenen *Stadadorm*-Menge in Form dieses Stoffwechselproduktes im Urin vorliegen mußte. Dies zeigt, wie hoch die Verluste bei den notwendigen Extraktionsmaßnahmen sein können.

Pentobarbital wird in Form des Natriumsalzes als *Nembutal* auch in Deutschland angewendet. Über das Stoffwechselverhalten des *Pentobarbitals* sind umfangreiche Untersuchungen durchgeführt worden. In den früheren Arbeiten (BRUNDAGE, HERWICK, SHONLE, v. DYKE u. Mitarb.) wurde festgestellt, daß nur ein kleiner Teil von *Pentobarbital* unverändert im Urin erscheint. SHONLE u. Mitarb. nehmen an, daß beim *Pentobarbital* wie auch beim *Stadadorm* im Körper der Barbitursäurering unter Bildung von Acetylharnstoff oder Acetamidderivaten aufgespalten wird. Daß solche nach der genannten Arzneimittelaufnahme im Urin niemals gefunden worden sind, erklärten sie damit, daß diese Verbindungen zu CO₂, NH₃ und Wasser abgebaut würden. 1947 konnten VAN DYKE u. Mitarb. zeigen, daß radioaktiv markierter N¹⁵ aus *Pentobarbital* nur zu 8% der aufgenommenen Isotopenmenge im Urin als NH₃- und Harnstoffausscheidung erscheint. 1949 beschrieben MAYNERT u. VAN DYKE ein Stoffwechselprodukt von *Pentobarbital*, 5,5-Äthyl-(3-hydroxy-1-methylbutyl)-barbitursäure. Fast gleichzeitig

haben ROTH u. Mitarb. bei der Maus durch Anwendung von papierchromatographischen und Isotopen-Methoden Anhaltspunkte für das Auftreten von 5 Umwandlungsprodukten im Urin nach Pentobarbitalaufnahme gefunden, wobei keines Pentobarbital oder Harnstoff sein konnte. Nach BRODIE u. Mitarb. (1953) werden höchstens 1% Pentobarbital beim Menschen unverändert ausgeschieden. Sie bestätigten das Auftreten des von MAYNERT u. VAN DYKE beschriebenen Umwandlungsproduktes in Mengen von etwa 15% der aufgenommenen Pentobarbitaldosis. MAYNERT u. DAWSON fanden im Hundeharn 2 Stereoisomere des bereits genannten, optisch aktiven Stoffwechselproduktes von Pentobarbital, während MARK u. Mitarb. beim Menschen nur eines davon finden konnten. TITUS u. WEISS konnten im Urin von Hunden, denen sie am C₂-Atom radiomarkiertes (¹⁴C-Pentobarbital verabreicht hatten, insgesamt 10 radioaktive Substanzen ermitteln, von denen aber nur Pentobarbital und die schon erwähnten Stoffwechselprodukte (Isomere) identifiziert werden konnten. ALGERI und MCBAY haben auf papierchromatographischem Wege das Auftreten eines weiteren Umwandlungsproduktes von Pentobarbital wahrscheinlich gemacht.

Die Ausscheidungsdauer von *Dial* beträgt 7 Tage (REICHE u. HALBERKANN). Diese Autoren konnten 1927 feststellen, daß bei 3 Patienten, die mehrere Tage lang 100–300 mg *Dial* täglich bekommen hatten, 27–31% des unveränderten Mittels im Urin ausgeschieden wurden. PAGET u. DESOBT fanden bei einem Patienten mit einer über 13 Tage ausgedehnten Aufnahme von täglich 100 mg 30% im Harn. KOPANYI u. Mitarb. 40% innerhalb von 2½ Tagen nach einmaliger Verabreichung von 80 mg/kg intravenös bei einem Hund.

Nach FRETWURST, HALBERKANN u. REICHE (1930) werden in Übereinstimmung mit anderen Autoren etwa 13–24% von *Naonal*, das heute fast nur noch im Allional verwendet wird, nach wiederholten Dosen beim Menschen und nach Einzeldosen beim Hund unverändert ausgeschieden. Bemerkenswert ist die Beobachtung von FRETWURST u. Mitarb., daß bei fiebernden Patienten nur 4–6% ausgeschieden wurden!

Bei *Noctal* gelang der erste Nachweis eines Stoffwechselproduktes von Barbitalen überhaupt, nämlich 1927 durch HALBERKANN u. REICHE (1926 hatte RÜHL im Labor des Stadt. Krankenhauses Nürnberg bereits ein Barbitursäureprodukt nach Noctalaufnahme aus dem Harn isoliert, aber nicht identifiziert). Diese Verbindung entsteht sowohl in vivo als auch in vitro durch hydrolytische Bromabspaltung. KRAFTWALD fand bei Tierversuchen 60–78% der in *Noctal* gegebenen Brommengen im Harn wieder, wo es zu 97–98% anorganisch gebunden war. 1–3% *Noctal* sollen nach HALBERKANN u. REICHE unverändert, 12–16% als Acetonylverbindung innerhalb von 2–3 Tagen bei Aufnahme von täglich 0,3 bis 1,0 g ausgeschieden werden. BOEDECKER u. LUDWIG verabreichten das Acetonylderivat intravenös an Kaninchen und fanden 19% dieser Verbindung unverändert im Harn.

1930 berichteten FRETWURST, HALBERKANN u. REICHE über den Abbau des *Pernocton* und *Dormalgin* (= *Pernocton* + *Pyramidon*) im menschlichen Körper und fanden 5–17% der aufgenommenen Menge ähnlich wie bei *Noctal* als bromfreies Hydrolyseprodukt 5,5-Acetonyl-isobutylbarbitursäure. Vom unveränderten Mittel sollen nur Spuren ausgeschieden werden. KARO hat über eine vollständige Harnsperrung nach Einspritzung des Mittels berichtet.

Stoffwechselprodukte von *Eunarcon*, einem ultrakurzwirkenden Narkotikum, sind noch nicht beschrieben worden. GLET konnte weder organisch gebundenes Brom noch Barbitursäure nachweisen. PAULUS dagegen fand in Leichteilen *Eunarcon*, allerdings bei einem Todesfall während der Injektion.

Über das Stoffwechselverhalten der Isobutylallylbarbitursäure (— *Sandoptal*) ist nur soviel bekannt, daß sie nur in Spuren unverändert im Urin ausgeschieden wird.

Das gleiche gilt für *Secobarbital*.

Butabarbital wird im Körper zum großen Teil umgewandelt und damit seiner narkotischen Wirkung beraubt. MAYNERT u. LOSIN haben 1955 an Hunden die Plasmakonzentration und die Ausscheidung von Butabarbital nach großen intravenösen Dosen (50 mg/kg) studiert. Sie fanden, daß 3—5% des Mittels unverändert ausgeschieden werden und daß etwa 29—35% als 5-Äthyl-5-(1-Methyl-2-carboxyl-äthyl)-barbitursäure im Harn erscheinen. Außerdem sei die Glucuronid-Ausscheidung vermehrt. Aus dem Plasma verschwindet Butabarbital beim Hund nach intravenöser Injektion von 36 mg Butabarbital-Natrium je Kilogramm Körpergewicht mit einer Quote von 6% je Stunde und liegt damit zwischen Veronal (3,5% je Stunde, BUTLER 1953) und Pentobarbital (15% je Stunde, BRODIE u. Mitarb. 1953). Damit erklärt sich auch seine „mittlere“ Wirkungsdauer, denn Wirkung und Verweildauer des unveränderten Mittels im Plasma sind korreliert. Über die Ausscheidung des Butabarbitals beim Menschen sind noch keine sicheren Ergebnisse gewonnen worden.

Neonal wird beim Hund als 5,5-Äthyl-(3-hydroxybutyl)-barbitursäure ausgeschieden (MAYNERT 1951). Die unveränderte Substanz hat einen Schmelzpunkt von 127—130°. Das Ausscheidungsprodukt schmilzt bei 152—153°.

Gemonil wird nach BUTLER (1953) im Tierkörper demethyliert, wobei im Plasma die Konzentration von Diäthylbarbitursäure innerhalb der ersten 24 Std in dem Maße ansteigt, wie die des unveränderten Mittels absinkt. Nach 24 Std ist etwa die Hälfte in Veronal umgewandelt. Das weitere Schicksal des Mittels im Körper gleicht dem von Veronal.

Noch nicht aufgeklärt sind die intravitale Abbauprozesse weiterer Barbiturate wie z. B. *Cyclopal*, 5,5-Amyl- β -allylbarbitursäure (im *Tempidorm*), 5,5-Allyl- β -bromallylbarbitursäure (im *Vesperone*) und 5,5-Äthyl-crotylbarbitursäure (im *Kalypnon*, nur in der DDR verwendet).

Kombinationspräparate. Die therapeutische Verwendung von Kombinationspräparaten ist heute sehr beliebt, sie werden in großer Zahl hergestellt. Die Kombination von verschiedenen Barbitalen unter sich ist aber verhältnismäßig selten (z. B. Somnifen, Trisomin und Tridomal), dafür werden andere Mittel um so häufiger mit Barbitalen kombiniert. In erster Linie sind es Analgetica, die neben mehreren (meist zwischen 3 und 5) anderen Komponenten Barbitale enthalten. Die „klassische“ Paarung besteht in einer Molekülverbindung von Veronal und Pyramidon, sehr gut bekannt unter der Markenbezeichnung Veramon. Wegen der teilweise antagonistischen Wirkung der Substanzen ist bei Mißbrauch nicht nur die klinische Diagnose, sondern auch die forensisch-toxikologische Analyse erschwert. Die Wirkungsüberlagerung der verschiedenartigen Komponenten und die unterschiedliche Ausbeute bei der Harnuntersuchung können das Ergebnis der Begutachtung auch sehr beeinflussen. Vor allem taucht häufig die Frage auf, welches der nachgewiesenen Mittel bzw. welche der in den aufgenommenen Mitteln enthaltenden Substanzen für den tödlichen Ausgang verantwortlich zu machen sind. Gerade bei pyramidonhaltigen Mitteln ist es möglich, daß große Dosen schwere Schädigungen auslösen können, so daß es oft fraglich geblieben ist, ob z. B. bei Optalidon-Vergiftungen die Hauptwirkung auf das darin enthaltene Barbital oder auf das Pyramidon zurückzuführen ist (MANZ). Manche der beschriebenen Barbital-Todesfälle z. B. sind ähnlich wie Pyramidonvergiftungen verlaufen, wobei toxische Temperatursteigerungen und nervöse Störungen aufgetreten sind. Daher muß immer an das Vorhandensein weiterer Substanzen gedacht werden,

auch wenn durch das Auffinden *einer* Giftsubstanz das Krankheitsbild geklärt zu sein scheint.

Eine weitere Bedeutung haben Kombinationspräparate bei der Begutachtung toxikologischer Fälle, wenn die Frage der potenzierenden Wirkung zu beantworten ist. Rein additiver Synergismus ist dort zu erwarten, wo das Stoffwechselgeschehen nicht wesentlich durch das Zusammenwirken von 2 oder mehr Komponenten beeinträchtigt wird. Ein solches additives Zusammenwirken ist bei den sog. Stufenschlafmitteln zu beobachten, wenn therapeutische Dosen eingehalten werden. Mit jeder Steigerung der Dosis über das zuträgleiche Maß hinaus muß aber ein gewisser potenzierender synergistischer Effekt auftreten, wenn die Stoffwechselfunktionen geschädigt sind, was der Fall ist, wenn z. B. der Sauerstoffverbrauch und das Kreislaufvolumen stark absinken und die Entgiftungsleistung der Leber beeinträchtigt ist. Synergistisch wirken auch Alkohol und Barbitale (Literatur bei WEINIG u. SCHWERD), Stickoxydul (STORMONT u. Mitarb.), Äthylen (KLEINDORFER u. HALSEY), Äther (LACEY), Cyclopropan (ROBBINS u. Mitarb.) und Morphin (LUNDY, ROWBOTHAM) verstärken die Wirkung der Barbitale. KOZELKA u. Mitarb. haben gezeigt, daß Morphin bei Kaninchen den Abbau des Amytals *in vivo* verringert, woraus sich auch ohne weiteres die Wirkungsverlängerung und -verstärkung ergibt. Nach ROBINSON verstärkt Kalium die Wirkung von Luminal. Acetylcholin potenziert die Wirkung von Veronal (DE NITO). Neuerdings haben die Phenothiazinkörper und Ganglienblocker oder „Tranquillizer“ eine besondere Bedeutung für dieses Problem erlangt. Sie können narkotische Effekte der Barbitale erheblich steigern, was vermutlich über die Stoffwechselretardierung geschieht, der die genannten Substanzen auch ihre Wirkung als „Winterschlaf“-Mittel verdanken.

Unter den Kombinationspräparaten sind die flüssigen Nervina und Sedativa besonders zu erwähnen, die meistens Diäthylammsalze von Barbitalen (*Sominifen*) enthalten. Tödliche Vergiftungen mit *Nervophyll* und *Euselon* wurden von uns mehrfach beobachtet. Bei diesen beiden Präparaten liegen Molekülverbindungen von Veronal und Luminal mit Pyramidon vor. In jedem Falle wurde unter anderem Veronal nachgewiesen, zum Teil mit geringen Luminalmengen vermischt.

Der postmortale Abbau von Barbitalen

Für den forensisch-toxikologischen Giftnachweis spielen nicht nur die streng genommen *postmortalen* Abbauercheinungen eine große Rolle, sondern auch die *in vitro* möglichen Veränderungen, die bei asservierten Körperflüssigkeiten und -organen im Laufe der Zeit auftreten. Denn die Untersuchung auf Gift kann aus äußeren Gründen möglicherweise erst nach Wochen oder Monaten stattfinden. Wird eine Leiche seziert, so sind meist schon mehr oder weniger starke Fäulniserscheinungen vorhanden. Bei Exhumierungen kommt zu den Fäulnisveränderungen der mit zunehmender Verwesung eintretende Substanzverlust. Über die beim Giftnachweis in der Leiche und nach Exhumierung insbesondere möglichen Bedingungen hat E. WEINIG grundsätzliche Ausführungen in dem Kapitel „Gerichtliche Vergiftungslehre“ des Ponsoldschen Lehrbuches (II. Aufl. 1957) gemacht.

Bei den Barbitalen sind die oben angeführten Veränderungen post mortem und *in vitro* nicht zu unterschätzen, bei denen Temperatur- und Zeitfaktoren eine große Rolle spielen. Zunächst seien die allgemein

möglichen und beobachteten hydrolytischen Spaltungen des substituierten Barbitursäurerings erwähnt:

NIELSEN (1933), MADSEN (1934), ASPELUND u. SKOGLUND (1937), RUIKOPF (1940), ROTONDARO (1940), RAVENTÓS (1954) und FRETWURST (1957) haben zur Klärung dieser Fragen beigetragen. Ein von FRETWURST gebrachtes Abbauschema zeigt die alkalischen Hydrolyseprodukte des Barbitursäurerings, *der in saurem Milieu beständig ist*.

In langjährigen Versuchen hat FRETWURST¹ Ansätze von 18 verschiedenen Barbituraten bei Zusatz von einem, zwei oder drei Mol-Äquivalenten Natronlauge bei 37° aufbewahrt und die Zersetzungserscheinungen untersucht. Die aufgefundenen Spaltprodukte

sind in Schema 1 unterstrichen. Nach einem Jahr war beim Luminal z. B. praktisch keine unveränderte Substanz mehr auffindbar. Mit der durchschnittlich größten Ausbeute wurde Acetylarnstoff (Acetureid) nachgewiesen. ASPELUND u. SKOGLUND hatten 1937 die Hydrolysedauer wesentlich kürzer gewählt und durch Kochen von Barbituraten mit Natronlauge bereits nach 3 Std eine Anzahl von Abbauprodukten festgestellt. Die prozentuale Ausbeute geht aus der Tabelle 4 hervor.

Als ASPELUND u. SKOGLUND ihre Versuchsreihe mit der äquivalenten Menge Alkali bei Zimmertemperatur 7 Tage lang stehen ließen, erhielten sie nur geringe Mengen Malonursäure mit den jeweiligen Substituenten, am meisten bei Prominal und praktisch keine Umwandlung bei Phanodorm und Isopropylallylbarbitursäure (Numal):

Tabelle 5

	1 Äquivalent NaOH	1,5 Äquivalent NaOH
Veronal	etwa 0,5% Malonursäure	13% Malonursäure d. Th.
Äthylallylb. . . .	etwa 2% Malonursäure	35% Malonursäure d. Th.
Dial	etwa 4% Malonursäure	41% Malonursäure d. Th.
Numal	Spur ?	2% Malonursäure d. Th.
Phanodorm . . .	—	nicht untersucht
Luminal	etwa 1% Malonursäure	20 bzw. 27% Malonursäure d. Th.
Prominal	etwa 24% Malonursäure	64% Malonursäure d. Th.
Evipan	etwa 12% Malonursäure	70% Malonursäure d. Th.
Äthylallyl-N-methylb. . . .	etwa 2,5% Malonursäure	57% Malonursäure d. Th.

Der Rest war unverändert geblieben.

¹ Wir verdanken dem Autor Einsichtnahme in das noch unveröffentlichte Manuskript. Inzwischen erschienen in Arzneimittelforschung 8, 44 (1958).

Tabelle 4

Substanz	Prozent der Theorie			
	Acetureid	Barbitursäure	Essigsäure	Malonursäure
Veronal . . .	7	45	—	30
Äthyl-allyl-barb. . . .	34	29	—	15
Dial	24	14	12	7
Numal	4	83	—	1,5
Luminal . . .	11	67	12	—
Prominal . . .	34	30	7	0,3
Evipan	48	23	—	4
Äthyl-allyl-N-methyl-barb.	32	28	—	25

Die Substituenten waren offensichtlich unverändert geblieben.

Die zweite Zahlenreihe zeigt, wie stark die Malonursäureausbeute erhöht werden konnte, wenn die Ansätze 1,5 Äquivalent Alkali (bei Numal, Äthylallyl-N-methylbarbitursäure und Evipan 2 Äquivalente) enthielten und bei Zimmertemperatur 7 Tage (Luminal 3 bzw. 6 Tage) stehengelassen wurden.

Je stärker der Alkaliüberschuß ist, desto rascher wird also der Barbitursäurering nach Schema 2 hydrolysiert.

Es fragt sich nun, ob in der Leiche oder in asserviertem biologischem Material ein derartiges Milieu, d. h. das Vorhandensein von freiem Alkali, möglich ist oder ob auch unter anderen Bedingungen der Barbitursäurering aufgespalten werden kann. Allgemein folgt nach dem Tode im Gewebe einer kurzdauernden starken Säuerung eine anhaltende, mehr oder weniger schwache. Selten wird ammoniakalisches Milieu erreicht (MICHAELIS, LAVES, O. SCHMIDT u. a.).

Über den Barbitalnachweis in exhumierten Leichen liegen nur wenige Mitteilungen vor (WEINIG). Neuerdings wurden von LUTZ stark schwankende Veronalmengen in den einzelnen Organen einer nach 6 Monaten enterdigten Leiche gefunden, die der bekannten Organverteilung bei frischen Leichen nicht entsprach.

Wir haben uns besonders mit dem Harn befaßt, der sich für den Barbitalnachweis am besten eignet und bei Schlafmittelvergiftungen meist reichlich zur Verfügung steht (durch Reizung des sympathisch-vegetativen Schließmuskelnerves erfolgt Sphincterverschluß und gleichzeitig Erschlaffung der Blasenwandmuskulatur). Der für die toxikologische Untersuchung in Betracht kommende Harn ist nicht steril, enthält meist geringe Eiweißmengen und stellt für manche Bakterien einen guten Nährboden dar. Besonders Urease produzierende Bakterien finden sich regelmäßig im Harn der Leiche, aber auch bald nach der Entnahme von ursprünglich sterilem Harn des Lebenden: *Mikrococcus ureae*, *Bact. ureae*, *Proteus vulgaris*, *Bact. fluorescens liquefaciens* spalten den Harnstoff in CO_2 und 2NH_3 , was zur „ammoniakalischen Harngärung“ führt. Zahlreiche Versuche haben uns gezeigt, daß das pH während der „ammoniakalischen Harngärung“ bis 9,5, höchstens bis 10,0 in den alkalischen Bereich läuft. Bei mehrmonatiger bis mehrjähriger Aufbewahrung von Harnproben unter Luftzutritt, mit oder ohne Belichtung, bei Zimmer- (20°) und Kühlraumtemperatur ($+4^\circ$) wurde stets eine schließlich gleichbleibende Einstellung auf neutrales bis schwach saures Milieu gefunden, nachdem der Harnstoff bis auf Spuren aufgespalten war. Eine Veränderung der Barbitale durch rein physikalisch-chemische Einflüsse war daher nur während der ersten Monate zu erwarten, in der Zeit der floriden „ammoniakalischen Harngärung“. Andere in der Literatur beschriebene Harnzersetzungs Vorgänge, wie die „saure Harngärung“, „Schwefelwasserstoffgärung“,

„Gärung unter Gasbildung“ oder „Schleimgärung“, sind an die Anwesenheit besonderer Bakterienstämme, meist pathogener Mikroorganismen gebunden und könnten nur in Ausnahmefällen bei Barbituratvergiftungen eine Rolle spielen.

Über Fäulnisveränderungen von Schlafmitteln oder ihren Stoffwechselprodukten konnten wir in der Literatur keine Angaben finden und führten deshalb Versuche bei Spontanfäulnis von Harn sowie nach Bakterienbeimpfung durch.

1. Verhalten zugesetzter Barbitale bei Spontanfäulnis

Zu normalen Sammelharnen wurden bestimmte Schlafmittel zugesetzt und bei Zimmertemperatur (18—24°) unter aeroben Bedingungen teils bei gedämpftem Licht, teils im Dunkeln der Spontanfäulnis überlassen. Als Kontrollen wurden Harnproben ohne Zusatz von Schlafmitteln unter gleichen Bedingungen aufbewahrt. Für die Untersuchungen wurden hauptsächlich solche Schlafmittel verwendet, die ganz oder zum Teil unverändert ausgeschieden werden. Daneben wurden aber auch solche Mittel zugesetzt, die nicht unverändert ausgeschieden werden, weil wir Einblicke in das Verhalten dieser Substanzen bei der Fäulnis in Leichenorganen gewinnen wollten. Es wurden Konzentrationen der Schlafmittel von 1, 2 u. 5 g je Liter gewählt.

Die meisten Barbitale blieben bei deutlicher Fäulnis des Substrates und einer Beobachtungszeit von über 2 Jahren unverändert. Die Wasserstoffionenkonzentration der Harnstieg von anfänglich p_H 6—7 auf 8—9 und nur selten auf 10, um nach Monaten zum Neutralpunkt zurückzukommen. Durch papierchromatographische Untersuchung (S. 128) konnten folgende Schlafmittel in fast unverminderter Menge nach 3 Monaten wiedergefunden werden: *Veronal*, *Veronal-Natrium*, *Luminal*, *Luminal-Natrium*, *Phanodorm-Calcium*, *Secobarbital*, *Butalbarbital*, *Stadadorm*, *Nembutal*, *3-Ketophanodorm*. Bei *Eripan* waren nach mehrmonatiger Fäulnis der Harnproben Veränderungen festzustellen, die sich vor allem in einem Schwächerwerden der nachweisbaren Menge, einer Senkung des R_F -Wertes und dem Auftreten von stärker fluoreszierenden Stoffen auf den Papierchromatogrammen der Harnextrakte anzeigte. Sichere Umwandlungsprodukte konnten nicht gefunden werden. Bei *Eunarcon* waren nach 6 Monaten 2 Barbitursäure-Flecken vorhanden, die im alkalischen Gemisch dicht untereinander lagen und R_F -Werte von 0,7 und 0,75 hatten. *Medomin* war nach 6 Monaten nicht mehr nachweisbar. Umwandlungsprodukte konnten nicht festgestellt werden. Gegenüber den reinen Barbitalen war *3-Ketophanodorm* bei der Fäulnis auffallend stabil, d. h. die nachweisbare Menge blieb konstant.

2. Verhalten ausgeschiedener Barbitale bei Spontanfäulnis

Die Barbitale, die im frisch untersuchten Harn vorhanden waren, konnten auch noch nach Wochen und Monaten gut nachgewiesen werden, wenn auch ein allmähliches Absinken der Ausbeute zu verzeichnen war. Besonders stabil waren *Veronal*, *Luminal*, *Phanodorm* und das *Medomin*- bzw. *Phanodorm-Oxydationsprodukt*. Das Luminal-Oxydationsprodukt war nach mehreren Monaten meist nicht mehr nachweisbar. Bei diesen Versuchen wurde die bemerkenswerte Beobachtung gemacht, daß die Barbitale nach kurzer Alterung der Proben in reinerer Form und etwas größerer Menge zu isolieren waren als bei der Untersuchung des Frischharns. Dies hängt wohl mit dem Abbau einiger normaler Harnbestandteile zusammen, z. B. mit dem allmählichen Verschwinden des Harnstoffes oder der Bildung flüchtiger Säuren aus den hochmolekularen organischen Harninhaltsstoffen. Auch die Spaltung von Glucuroniden und von Hippursäure können dazu beitragen. Bei *Studadorm* sinkt die Nachweisbarkeit allmählich ab. Nach 2 Monaten war z. B. die reine Substanz und ein Oxydationsprodukt noch gut zu finden, während nach 8 Monaten nur noch eine Spur der unveränderten Substanz papierchromatographisch zu erkennen war.

An Zersetzungsprodukten wurde bisher lediglich Phenyläthylacetylarnstoff in einem Harnansatz mit Zusatz von Luminal-Natrium nach 2 Jahren neben einer größeren Menge Luminal nachgewiesen. Eine langsame Zersetzung der Barbitale findet bereits in wäßriger Lösung statt, wenn einige Tropfen NaOH zugesetzt werden. Wir haben 40 mg-%ige Barbital-Lösungen nach etwa einjähriger Aufbewahrung in braunen Glasflaschen auf ihren Barbitursäuregehalt untersucht und fanden papierchromatographisch und spektrophotometrisch etwa die halbe Intensität von Flecken bzw. Absorptionen, die bei frischen Lösungen mit 40 mg-% *Veronal*, *Phanodorm* und *Evipan* unter sonst gleichen Bedingungen auftraten. Die gealterten Barbital-Lösungen hatten ein p_H von etwa 7, auf das sie schon bei der Herstellung mit NaOH gebracht worden waren. Diese Ergebnisse entsprechen denen von ASPELUND u. SKOGLUND sowie FRETWURST bei der Hydrolyse reiner Barbital-Lösungen.

Mit Rücksicht auf diese Ergebnisse arbeiteten wir die Versuche von ASPELUND u. SKOGLUND mit mehreren Barbitalen nach und konnten gleichartige hydrolytische Spaltungsprodukte wie diese Autoren erzielen, wenn wir den Ansatz mit äquivalenten NaOH-Mengen 2 Std kochten. Dagegen traten nur Spuren von Ringspaltprodukten auf, wenn wir unter sonst gleichen Bedingungen Ammoniak zusetzten. *In ammoniakalischem Milieu, das dem der faulenden biologischen Substanzen (Harn) am ehesten entspricht, ist also kaum eine Hydrolyse der Barbitale zu erwarten.*

Nach unseren Erfahrungen ist nur mit einem langsamen Abbau der Barbitale im faulenden Harn zu rechnen, wenn sie überhaupt als solche ausgeschieden worden sind. Gute Nachweismöglichkeiten sind noch nach Monaten vorhanden, wie wir auch aus Vergiftungsfällen wissen, bei denen eine Nachuntersuchung notwendig war. Offenbar treten nur geringe hydrolytische Veränderungen auf, die auch bei reinen Barbitallösungen nach Ammoniak- oder Alkalizusatz zu beobachten sind.

3. Versuche mit Bakterien

Obwohl es nahe liegt, daß die Bakterien oder ihre Enzyme auf den Abbau der Schlafmittel bei der Fäulnis einen Einfluß haben, sind uns Beobachtungen, die einen Zusammenhang zwischen der Bakterientätigkeit und dem Abbau der Schlafmittel beweisen, nicht bekanntgeworden.

HAYAISHI u. KORNBERG haben in Bakterien ein Ferment „Barbiturase“ gefunden, das in der Lage war, unsubstituierte Barbitursäure zu spalten. Als Spaltprodukte traten Malonsäure und Harnstoff auf. Den aus Erdproben gezüchteten Bakterienstamm nannten sie *Corynebacterium* 161. Die enzymatische Spaltung durch Barbiturase war auf nicht am C⁵ substituierte heterocyclische Verbindungen beschränkt. Bei folgenden Verbindungen wurde keine Wirkung erzielt:

5-Methylbarbitursäure, Veronal, Luminal, 2-Thiobarbitursäure und Isobarbitursäure.

Das p_H-Optimum liegt zwischen p_H 8 und 9. Malonsäure wird von den Bakterien in nicht charakteristische Molekülreste aufgespaltet.

Bei verschiedenen Ansätzen zum Nachweis von bakteriell bedingter Zersetzung der Barbitale blieb die Frage offen, ob der beobachtete Abbau durch Bakterien oder chemische Prozesse entstanden war.

Da die Verhältnisse bei unseren Spontanfäulnisversuchen in bezug auf das Bakterienwachstum unübersichtlich waren, haben wir weitere Versuche durchgeführt, um den Bakterieneinfluß bei der Schlafmittelzersetzung im Harn näher kennenzulernen.

Wir haben deshalb zunächst verschiedene Harnproben bakteriologisch untersuchen lassen¹. Das Ergebnis dieser Untersuchungen von spontan gefaulten Harnen war verhältnismäßig einförmig. Vorwiegend fanden sich:

Enterokokken	Bact. lactis aerogenes
Bact. proteus	seltener diphtheroide Stäbchen und
Bact. coli	Streptokokken mit vergrünendem
Bact. coli imperfectum	Wachstum

¹ Herrn Dr. LEGLER, Direktor der Staatlichen Bakteriologischen Untersuchungsanstalt Erlangen, sei für das freundliche Entgegenkommen der beste Dank ausgesprochen.

Ein besonderer Einfluß der Zeit auf die Bakterienflora konnte nicht festgestellt werden. Es kam jedoch vor, daß vereinzelte Harnproben mit der Zeit steril wurden, ohne daß besondere Veränderungen an ihnen hätten wahrgenommen werden können. Ein Unterschied im Bakterienbefall zwischen schlafmittelhaltigen und schlafmittelfreien Harnen konnte qualitativ nicht festgestellt werden.

Nach diesen Vorversuchen wurden mit Herrn Dr. KLINGE vom Hygienischen Institut der Universität Erlangen Versuchsreihen angesetzt, die zur Klärung der Frage dienen sollten, ob Barbitale durch Bakterien gespalten werden. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen, die in anderem Zusammenhang veröffentlicht werden sollen, waren bisher kurz folgende:

Colibakterien wurden in synthetischen, anorganischen, stickstoffhaltigen aber kohlenstofffreien Nährböden mit Phanodorm angesetzt. Die Phanodormkonzentration betrug 1 und 5 mg-%. Ein Kontrollansatz ohne Phanodorm unter sonst gleichen Bedingungen lief mit. Nach 24, 72 und 168 Std Bebrütung bei 37° haben sich weder spektrophotometrisch noch papierchromatographisch Anhaltspunkte für einen Phanodorm-Abbau ergeben. Eine nennenswerte Bakterienvermehrung war aber auch nicht nachweisbar.

Eine andere Versuchsreihe sollte klären, ob Bakterien in der Lage sind, ihren Energiebedarf aus Barbitalen oder Ureiden allein zu decken, wenn sie an diese Substanz adaptiert sind.

Daher wurden in synthetischen Nährmedien Bakterienmischkulturen aus verschiedenen Erdproben suspendiert und mit Schlafmittellösungen versetzt. Nach 8 Tagen (Aufbewahrung bei 37°), die in Anlehnung an die Versuche von LARA der Adaptation der Keime dienen sollten, waren keine Trübungen der Ansätze festzustellen. Dann wurden diese Bakterienaufschwemmungen auf sterile Substrate mit Zusatz von Schlafmitteln überimpft, die teils stickstoffhaltig (durch NH_4Cl), teils stickstofffrei, teils kohlenstoffhaltig (durch Glucose) und teils kohlenstofffrei waren, aber außerdem jeweils eine der folgenden Substanzen enthielten: *Veronal*, *Luminal*, *Phanodorm*, *3-Ketophanodorm*, *Medomin*, *Evipan* und *Barbitursäure*.

Boullionansätze zeigten vergleichsweise gutes Wachstum, während bei den synthetischen Nährmedien, die in Anlehnung an MONOD u. WOLLMAN hergestellt worden waren, lediglich dort ein gutes Wachstum zu erkennen war, wo außer den Schlafmitteln auch andere Stickstoff- und Kohlenstoffquellen vorhanden waren. Nur in den barbitursäurehaltigen Röhrchen war ohne C-Quelle nach 4—5 Tagen eine Trübung zu erkennen, die nach 8 Tagen bei 37° stärker wurde. Die Ergebnisse bestätigen also die Angaben von HAYASHI u. KORNBERG, daß nicht substituierte Barbitursäure von adaptierten Bakterien gespalten wird,

daß aber von den bisher untersuchten substituierten Barbitalen *keins* zersetzt wurde.

Aus den Versuchen ergibt sich, daß Barbitale in den von uns gewählten Konzentrationen (bis 20 mg 100 ml) offenbar keine Wirkung auf die üblicherweise in faulenden Harnproben vorhandenen Keime ausüben können. Das Wachstum der Bakterien scheint trotz des Vorhandenseins von Schlafmitteln ungestört weiterzugehen, wenn genügend energieliefernde Substanzen vorhanden sind.

Für einen Abbau von Schlafmitteln durch die verschiedenen Mikroorganismen haben die Untersuchungen bisher keinen sicheren Anhalt ergeben. Dagegen konnte bestätigt werden, daß die *nicht substituierte Barbitursäure* für Bodenbakterien als Stickstoff- und Kohlenstoffquelle dienen kann. Der Abbau dieser Substanz durch „Barbiturasen“ geht nach HAYAISHI u. KORNBERG über Harnstoff und Malonsäure, die diese Autoren in ihren Ansätzen nachweisen konnten und führt zu den Bausteinen CO_2 und NH_3 .

LARA konnte nachweisen, daß in zellfreien Fermentansätzen aus Kulturen des *Corynebacterium* *Nocardia corallina* Barbitursäure unter Bildung von 1 Mol CO_2 , 1 Mol NH_3 und 1 Mol Malonsäure umgesetzt wird. Wahrscheinlich kann auch Thymin und Uracil in Barbitursäure umgewandelt und dann aufgespalten werden, während daneben 5-Methylbarbitursäure sich aus Thymin bilden kann und schließlich demethyliert den gleichen Weg geht. Dieser Abbauweg erscheint jedoch nach LARA noch nicht gesichert.

Pathogene Keime wurden von uns nicht untersucht. Nach STOLL kommen bei Harninfektionen in 28% Erreger der Coligruppe in Betracht, weiterhin 26% Kokken und 5% *Proteus*, wenn es sich um Monoinfektionen handelt (in 70% der Fälle). In der Mehrzahl sind demnach auch bei infektiöser Erkrankung mit Keimbeseidelung der Harnblase ähnliche Verhältnisse zu erwarten wie bei der Spontanfäulnis, wenn auch nicht übersehen werden soll, daß Stoffwechselunterschiede gegenüber den apathogenen Keimen vorhanden sein können.

Methoden zum Nachweis von Barbitalen in biologischem Material

Gegenüber experimentellen Untersuchungen sind die Analysen von Leichenteilen und Körperflüssigkeiten für gerichtliche Zwecke meist erschwert:

1. Durch Unklarheit über Art, Menge und Aufnahmezeit des Giftes.
2. Durch intravitale Abbauveränderungen unbekannter Größe, oft auch unbekannter Art.
3. Durch postmortale Zersetzungsprozesse oder anderweitigen Schwund des nachzuweisenden Giftes (Diffusion).

4. Durch die begrenzte Menge des unwiederbringlichen Untersuchungsgutes.

5. Durch die Notwendigkeit eines vor Gericht unumstößlichen Beweises.

Diese Besonderheiten verlangen in erster Linie materialsparende und spezifische Identifizierungsreaktionen, möglichst geringe Verluste bei der Isolierung, Trennung und Reinigung und ein System von Vorproben großer Empfindlichkeit, das in erster Linie zum Ausschluß zahlreicher Gifte führen muß.

Bei biochemischen Versuchen kann auf Spezifität weitgehend verzichtet werden, da das verwendete Präparat feststeht.

Analysen von Leichenteilen sollten zwar nicht unnötig verzögert, können aber mit größerem zeitlichem Spielraum durchgeführt werden als Untersuchungen, die zur Unterstützung und Sicherung der klinischen Diagnose bei Vergiftungsverdacht dienen sollen. Hier kommt es auf jede Minute an. Der Analysengang muß darauf eingestellt werden.

Extraktion, Isolierung, Reinigung, Trennung und Identifizierung sind die bekannten Hauptphasen der Barbital-Analyse aus biologischem Material.

Für die *Extraktion* steht eine Reihe bewährter Verfahren zur Verfügung, an erster Stelle das von STAS und OTTO, das die Eiweißfällung mit Alkohol vorsieht. Zahlreiche andere Fällungen, etwa mit Trichloressigsäure, mit Natriumwolframat und Schwefelsäure, mit Bleiacetat u. a. wurden angegeben. Beim Harn genügt meist die direkte Extraktion nach Einstellung des gewünschten pH.

Zusammenfassende Darstellung der bisher gebräuchlichen Barbital-Extraktions- und -Nachweismethoden: H. KAISER (1932), H. FISCHER (1940), MAYNERT u. VAN DYKE (1949), RAVENTÓS (1954), UMBERGER (1954).

Die Auswahl der Lösungs- und Extraktionsmittel ist besonders wichtig; obwohl die meisten Barbitale in Chloroform nur schlecht löslich sind, wird es häufig verwendet, weil es größere Reinheit der Extrakte bewirkt. Der Extraktion mit Chloroform haftet aber der Nachteil an, daß manche Barbital-Oxydationsprodukte kaum erfaßt werden, da sie in Chloroform schlechter oder nur wenig besser löslich sind als in Wasser, z. B. nach CURRY Hydroxyluminal.

VAN ITALLIE u. STEENHAUER haben folgende Löslichkeitszahlen für Veronal angegeben:

Tabelle 6

Veronal löst sich (bei 20 ° C) in

165	Teilen Wasser
9	Teilen 90%igem Alkohol
27,5	Teilen 50%igem Alkohol
18,7	Teilen Äther
257(!)	Teilen Chloroform und
8,9	Teilen Essigester (Aether aceticus, Äthylacetat)

In der amerikanischen Literatur finden sich mehrere Arbeiten mit Angaben über Verteilungskoeffizienten von Barbitalen zwischen Lösungsmitteln, wovon als Beispiel die Tabelle von BUSH, BUTLER u. DICKISON über das Löslichkeitsverhalten

von Evipan, Nor-Evipan und deren Ketoprodukte gebracht wird. Die Daten sind geschätzt. Bei 25–30° C enthielten die Wasserphasen vor der Verteilung 0,3 bis 10 mg/ml.

Aus der Tabelle 7 geht hervor, daß für Barbitale und N-Alkyl-Barbitale Äther als Extraktionsmittel geeignet ist, während bei den Ketoprodukten nur ungenügende Ausbeuten bei einmaliger Extraktion zu erwarten sind, die sich allerdings durch Verschiebung der Mengenverhältnisse verbessern lassen. Am besten ist die

Tabelle 7

	Benzol/ Wasser	Äther/ Wasser	Äthyl- acetat/ Wasser
Nor-Evipan . . .	0,4	10	25
Evipan	25	32	65
Keto-Nor-Evipan		0,2	1,8
Keto-Evipan I .		0,5	6,6
Keto-Evipan II .			6,2

Es wurden gleiche Mengen der wäßrigen und der organischen Phase verwendet.

Wird zuerst bei saurer (I), dann bei alkalischer (II) und zuletzt bei bicarbonat-alkalischer (III) Reaktion extrahiert, so sind in I Barbitale, Ureide, organische Säuren (auch Glucuronide) und fast alle extrahierbaren Harnfarbstoffe zu erwarten. In II freie Basen (Alkaloide und synthetische Basen), aber bei hoher Barbitursäure-Konzentration auch noch Spuren von Barbitalen, die ohne weiteres bei alkalischem Milieu übergehen können. In III sind *auch Barbitale (Spuren) und vor allem ihre Oxydationsprodukte* zu erwarten, daneben Harnstoffspuren.

Manchmal treten in diesen Extraktückständen bereits Kristalle auf, die von Schlafmitteln herrühren können, aber in der Regel normale Harnbestandteile darstellen.

In I finden sich häufig größere nadelförmige, farblose bis leicht gefärbte Kristalle, Hippursäure oder Benzoesäure. Die Extraktückstände sind gelb bis rotbraun.

In II ist nur ganz selten ein kristalliner Niederschlag zu sehen, die Extraktückstände sind auch meistens farblos.

In III findet sich häufig ein farbloser Niederschlag von sehr kleinen Kriställchen, die von Harnstoff herrühren können.

Man kann also nicht allein aus dem Auftreten von Kristallen auf das Vorhandensein von Schlafmitteln oder anderen körperfremden Substanzen schließen. Bei größerer Übung sind jedoch verschiedene Kristallarten rasch zu erkennen, wenn sie sich von den üblicherweise vorhandenen unterscheiden.

Es ist zweckmäßig, stets die gleiche Grundtechnik zu verwenden, da nur so gute Vergleichsmöglichkeiten zwischen einzelnen Untersuchungen gegeben sind. Abänderungen sind dort erforderlich, wo die oben erwähnte Technik nicht ausreicht oder zu verlustreich ist. Wenn z. B. größere Harnmengen extrahiert werden sollen, wurde man mit einem Scheidetrichter zu große Lösungsmittelmengen benötigen. Deshalb wird in solchen Fällen vorteilhaft ein Perforationsgerät benutzt, das kontinuierlich arbeitet und mit kleinsten Mengen des Lösungsmittels eine bestmögliche Ausbeute gewährleistet. Wir verwendeten den Soxhleth'schen Extraktionsapparat, nachdem wir den Harn im Warmluftstrom bis fast zur Trockne eingedampft hatten. Der verbleibende Salzbrei wird in eine Soxlethhülse eingefüllt

Verteilung bei Äthylacetat für Barbitale wie für Ketoprodukte, so daß man hier mit sehr kleinen Lösungsmittelmengen auskommt. In der letzten Zeit sind wir daher dazu übergegangen, vorwiegend Äthylacetat zu verwenden, wenn es sich um Extraktionen handelte, die nicht durch Eindampfen oder Abdestillieren des Lösungsmittels, sondern durch Salzbildung des Barbitals und Überführen in eine wäßrige Phase weiterbearbeitet wurden (Essigester siedet bekanntlich erst bei 77°, Äther bereits bei 35°).

und nun mit beliebigem Lösungsmittel ausgezogen. Nativharn haben wir dagegen in einem Apparat nach GREINER u. FRIEDRICHS perforiert. Das Gerät eignet sich zum kontinuierlichen Extrahieren von etwa 500 cm³ Harn. Durch einen Hahn am Boden des Extraktionsgefäßes und durch einen seitlichen Stutzen wird ein Abfüllen der untersuchten Harnmenge und sofortiges Neufüllen — sei es mit einer weiteren Menge des gleichen Harns oder nach pH-Änderung des bereits untersuchten — möglich. Diese Apparatur ist in der vorliegenden Form für Extraktionen mit Flüssigkeiten leichter als Wasser gedacht. Für organische Lösungsmittel, die schwerer sind als Wasser, eignet sich eine andere Apparatur mit U-förmig gebogenem Extraktionsrohr (modifiziert nach PREGL).

Diese Verfahren sind für experimentelle Untersuchungen vorzuziehen, wenn größere Harnmengen vorhanden sind. Bei Vergiftungsfällen sind sie wegen der kleinen Harnmengen meistens nicht zweckmäßig.

Zur Herstellung der Rohextrakte wurde auf jegliche Fällung, Adsorption oder oxydative Eingriffe, wie sie bei früheren Verfahren angegeben worden waren (MOLLE u. KLEIST, GADAMER, HANDORF, VAN ITALLIE u. STEENHAUER, AUTENRIETH, KÜHN, DEININGER) verzichtet, um möglichst alle extrahierbaren Substanzen zu erfassen.

Die Reinigung der Rohextrakte muß je nach der vorhandenen Menge modifiziert werden. Bei sehr kleinen Extraktmengen, etwa von 5—10 ml Harn, ist vorwiegend die papierchromatographische Trennung angebracht (S. 128). Bei größeren Substanzmengen wurde zur Abtrennung von Verunreinigungen entweder die fraktionierte Vakuumsublimation oder die präparative Papierchromatographie oder ein Verfahren zur Trennung auf Grund verschiedener Löslichkeit der Komponenten angewendet.

Für die papierchromatographische Untersuchung kleiner Harnmengen wurde ein besonderes Extraktionsverfahren entwickelt (S. 129). Zum Nachweis der im Harn enthaltenen gut wasserlöslichen und schlecht extrahierbaren Substanzen (z. B. Harnstoff) wurde die Eindunstung unter Infrarotbestrahlung bei etwa 70° gewählt und die fraktionierte Vakuumsublimation angeschlossen.

Die *Isolierung* der Substanzen aus den Rohextrakten kann durch Fällungsmaßnahmen (für Barbitale zusammengestellt in BAUER-MOLL), Chromatographie oder Adsorption erfolgen. Zweckmäßig wird eine Methode angewandt, die gleichzeitig die Trennung von Gemischen erlaubt, z. B. ein fraktionierendes Sublimationsverfahren oder die Papierchromatographie verwendet. Im Hinblick auf die Identifizierung ist bei Vorhandensein von ausreichenden Barbital-Mengen (mehr als 100 γ) die kristalline Darstellung anzustreben.

Wir verwenden neben dem Koflerschen Sublimationsapparat ein einfaches *Gerät zur fraktionierten Vakuumsublimation*, das nach dem Prinzip des Wärmegradienten gebaut ist und auf M. BEHRENS zurückgeht (über das Gerät und seine Anwendungsmöglichkeit in der Mikrochemie wird an anderer Stelle ausführlich berichtet). Mit diesem Gerät ist in *einem* Arbeitsgang die Trennung der nichtsublimierbaren von den sublimierbaren sowie der sublimierbaren Substanzen unter sich möglich, wenn ihre Sublimationsgeschwindigkeit unterschiedlich groß ist. Bei einem Vakuum von 10⁻² Torr laufen die meisten Sublimationsvorgänge bereits in 5—20 min ab. Die einzelnen Fraktionen

sammeln sich in dem etwa 50 cm langen Sublimationsrohr mit etwa 4 mm lichter Weite. Um die geringen Substanzspuren möglichst verlustlos entfernen zu können, haben wir das Rohr mit einer hitzebeständigen Kunststoffolie ausgekleidet. Dieses Gerät hat sich bereits vielfach bewährt. Zum Beispiel können sehr schöne Kristalle auch von manchen Barbitalen erzielt werden, die sonst nur schlecht zur Kristallbildung zu bringen sind. Bereits die morphologische Untersuchung der Sublimate und ihre Anordnung im Rohr gibt bei einiger Übung Hinweise auf die Art der vorhandenen Substanz. Trennungen von Harnbestandteilen, z. B. Benzoesäure, Hippursäure und Harnstoff von Barbitalen sind möglich. Oft können noch μ -Mengen erfaßt und kristalloptisch identifiziert werden. Größere Kristallisate stehen für die Schmelz- und Mischschmelzpunktbestimmung zur Verfügung. Die Ausbeute bei Versuchen mit Reinsubstanz betrug bei 18 untersuchten Barbitalen und Ausgangsmengen zwischen 1 und 20 mg 70—90% (JANUS).

Sehr große Bedeutung hat bei der Vakuumsublimation die Möglichkeit molekularer Veränderungen, z. B. Dekarboxylierung bei Malonursäuren, die wir regelmäßig beobachten konnten, isomere Umlagerung und Kondensation von Harnstoff. Barbitale sublimieren unverändert, bei ihnen kann aber die Fähigkeit, Mischkristalle mit anderen Barbitalen und mit ähnlich gebauten Aromaten zu bilden, empfindlich stören, wenn man die zu erwartenden Bilder nicht aus Vergleichsuntersuchungen kennt. Nach Kenntnis von Testgemischen wird jedoch die Diagnose erleichtert. Auch hierüber wird an anderem Ort ausführlich zu berichten sein.

Die *Papierchromatographie* ist auch in der toxikologischen Analyse unentbehrlich geworden. Verwendet man sie zu Reinigungszwecken und zur Trennung von Gemischen, so kann man die bei Analysen biologischen Materials anfallenden Mengen ohne Schwierigkeiten auf 1—2 Papieren von je 20 cm Breite bewältigen. Nach der Entwicklung und Sichtbarmachung eines Teststreifens werden die Zonen eluiert und sublimiert. PALMIERI u. ROMANO haben 1951 als erste Barbitale papierchromatographisch zu trennen versucht. Heute wird allgemein das von ALGERI u. WALKER (1952) angegebene Lösungsmittelgemisch (aufsteigend) für die Trennung verwendet: *N*-Butanol gesättigt mit 5 n NH_4OH . Weitere Untersuchungen stammen unter anderem von RAYENTÓS, GRIEG, DEININGER, PFEIL u. HÜBNER, BURMESTER, DIETZ, CURRY, SEIFERT, SCHMIDT u. AROLD, MOHRSCHEITZ. Zur Sichtbarmachung der Flecken dient am besten Mercuronitrat, weiterhin UV-Licht gefiltert bei 254 m μ , LEMAIRES Reagens, Silberacetat KMnO_4 , Kobalt-Salz und flüchtige Basen („Kobalt-Amin“). Eines der empfindlichsten Reagentien zur Sichtbarmachung ist HgNO_3 (etwa 20 % Erfassungsgrenze). Für Thiobarbiturate eignet sich GROTES Reagens. Hat man einen Fleck erst einmal geortet, so können noch wesentlich geringere Mengen (5 %) durch Messung der UV-Absorptionskurve erkannt und in der Regel identifiziert werden.

Wir setzen meistens 2 Flecken vom gleichen Extrakt nebeneinander auf, wovon zunächst ein Streifen nach der Entwicklung mit HgNO_3 behandelt wird. Der andere kann nach der Ortung und Elution der Substanz mit $n/2$ NaOH spektrophotometrisch gemessen werden. Außerdem lassen wir die gleichen Flecken in einem

Gemisch saurer Reaktion (n-Butanol-Ameisensäure-Wasser 12:1:7 nach JATZKEWITZ) laufen, um einen weiteren Rf-Wert zu bekommen und damit die Beweis-sicherheit zu erhöhen. Besonders bewährt hat sich diese Methode bei der Unterscheidung von Barbitalen und anderen Schlafmitteln oder sonstigen Harninhaltsstoffen, da erst durch das zweite Laufmittelgemisch eine Erkennung möglich war. Es ist anzuraten, daß in der toxikologisch-analytischen Praxis möglichst wenige Standard-Laufmittelgemische verwendet werden, damit eine gute Vergleichbarkeit gegeben ist. Stets sind Vergleichssubstanzen — soweit vorhanden — mit anzusetzen. Über die Gewinnung von Vergleichssubstanzen s. S. 137. Kürzlich hat MOHRSCHULZ als erster eine größere Reihe von Schlafmitteln papierchromatographisch nach Körperpassage nachzuweisen versucht. Er verwendete ein ähnliches Gemisch wie ALGERI u. WALKER und machte die Substanzen mit HgNO_3 sichtbar. Seine Ergebnisse decken sich weitgehend mit den unseren, was die Abbauprodukte von Barbitalen betrifft. MOHRSCHULZ kommt zu dem Schluß, daß die Papierchromatographie zwar nicht immer eindeutige Resultate zu liefern vermag, aber doch in vielen Fällen zu gut ablesbaren Ergebnissen führt, besonders bei der Bestätigung eines bestimmten Verdachtes. Wir pflichten ihm bei, daß die Papierchromatographie häufig die einzig anwendbare Methode ist, nämlich bei geringer Menge des zu untersuchenden Materials, bei sehr geringer Barbitalkonzentration oder bei anderweitiger Unmöglichkeit, die klassischen Erkennungsmerkmale zu verwenden, von denen er Schmelzpunkt und Sublimationstemperatur nennt.

Mit einem Reagens von guter Barbitursäure-Spezifität, dem Kobalt-Amin können leider nur große Barbitalmengen erfaßt werden, etwa 300 γ . Deshalb sind die unspezifischen, aber empfindlicheren Methoden bei geringer Ausbeute vorzuziehen, da die Papierchromatographie nur bei kleinen Mengen vorteilhaft als Identifizierungsmethode angewendet wird.

Um die Erfassung der Barbitalk-Ausscheidungsprodukte zu verbessern, gleichzeitig aber mit möglichst geringer Harnmenge auszukommen, haben wir folgendes Prinzip für die Ausmüttelung angewendet: Bei p_{H} 6 werden die Barbitale sowie ihre frei vorliegenden Keto- und Hydroxyprodukte mit Äthylacetat extrahiert, in wenig Ammoniak übergeführt und dieser direkt auf Chromatogramme aufgesetzt. Mit der gleichen Harnportion kann dann die Reaktion nach JATZKEWITZ zum Nachweis basischer Suchtmittel durchgeführt werden. Zum Teil werden sogar Glucuronide und gepaarte Ätherschwefelsäuren mit dieser Methode erfaßt, besser allerdings nach kurzem Erhitzen der Harnprobe mit Salzsäure. Ausführlich wird über diese Methode an anderer Stelle berichtet.

Bei unbekannter Anamnese wird es nur selten gelingen, aus dem Rf-Wert eine Differenzierung der einzelnen Barbitale vorzunehmen. Die zahlreichen möglichen Präparate unterscheiden sich chemisch zu wenig (s. Tabelle 8). Besser wird die Diagnose durch das Auftreten von Umwandlungsprodukten und durch das zweite Lösungsmittelsystem gefestigt, da viele Nichtbarbiturate hier weniger hoch laufen als die Barbitale, die fast die Front erreichen.

Die Zuordnung eines einzelnen Fleckes wird außerdem erschwert, da gerade bei den Barbitalen größere Streubreiten der Rf-Werte auftreten, wie es unter anderem auch MOHRSCHULZ festgestellt hat. Alles zusammen genommen, müssen die Ergebnisse der papierchromatographischen Untersuchung bei forensischen Fällen mit großer Vorsicht bewertet werden. Ohne weitere Identifizierungsmaßnahmen, auf die

nunmehr näher eingegangen werden soll, kann eine sichere Diagnose kaum gestellt werden.

Im Anschluß an die papierchromatographische Untersuchung kann die *Identifizierung* durch *UV-Spektrophotometrie* versucht werden. Noch 5% Substanz sind damit nachweisbar. Allerdings ist nur die Gruppendiagnose eines Barbiturates möglich, die in Verbindung mit dem papierchromatographischen Ergebnis unter Umständen auf ein bestimmtes Derivat schließen läßt.

Colorimetrie. Für den Nachweis der Barbitale wurde bisher die von ZWIKKER eingeführte Kobalt-Reaktion am meisten verwendet, die auf einer blauvioletten Komplexbildung zwischen Barbitursäure und Kobaltsalzen bei alkalischer Reaktion in wasserfreiem Milieu beruht. KOPFANYI hat in zahlreichen Untersuchungen die „Kobaltamin-Reaktion“ quantitativ ausgebaut und angewendet. An Stelle der

Tabelle 8. *Tabelle der R_f-Werte verschiedener Barbitale*

Präparat	R _f I	R _f II	Präparat	R _f I	R _f II
Veronal . .	0,48	0,90	Pentobarbital	0,74	0,95
Luminal . .	0,50	0,90	Trapanal	0,82	0,95
Phanodrom .	0,60	0,95	Thiogenal	0,80	0,95
Evipan . . .	0,70 ¹	0,95	Baytinal	0,80	0,95
Prominal . .	0,68	0,95	Inactin	0,80	0,95
Medomin . .	0,72	0,95	Keto-Phanodorm	0,23	0,80
Stadadorm .	0,75	0,95	Keto-Medomin	0,25	0,80
Vesperone . .	0,75	0,95	Hydroxy-Luminal	0,20	0,55
Noctal . . .	0,57	0,90	Keto-Vesperone	0,25	0,85
Pernocton . .	0,70	0,85	Tranapalcarboxylsäure . .	0,21	
Eunarcon . .	0,76	0,95	Tempidorm (Barbitur-		
Butabarbital.	0,72	0,95	säurekomponente)	0,70	0,90
Seconal . . .	0,77	0,95	Pernocton-Hydrolyseprodukt	0,25	0,70
Dial	0,59	0,90		0,45	

I : n-Butanol, 5 n Ammoniak, aufsteigend.

II : n Butanol, Ameisensäure, Wasser.

¹ Den in der Literatur angegebenen Wert von 0,90 konnten wir nicht bestätigen.

zuerst verwendeten anorganischen Basen führte KOPFANYI das Isopropylamin ein, das eine stabile, colorimetrisch meßbare Farbe ergab. OETTEL verwendete die Reaktion modifiziert halbquantitativ. *Essigsäure* und andere *chloroformlösliche Säuren*, *Aldehyde*, *Theobromin*, *Theophyllin*, (KOPFANYI, RILEY), *Thymin*, *Biuret*, *Guanidin*, *Oxamid*, *Hippursäure*, *Kreatinin* und *Sulfonamide* geben ebenfalls die Kobalt-Aminreaktion¹. Wenn auch diese Substanzen meistens nicht stören, da ihre Erfassungsgrenze wesentlich höher liegt als die der Barbitale (100 mg Sulfonamid entsprechen im Farbwert 2 mg Luminal; KOPFANYI, GREEN u. LINEGAR) und da sie in den Extrakten in solchen Mengen nicht zu erwarten sind, so ist damit doch der Wert dieser Reaktion sehr umstritten. Ihre Anwendung hat mehrfach zu Fehldeutungen geführt. Bezüglich der umfangreichen Literatur über Untersuchungen mit der Kobalt-Aminreaktion sei auf die Arbeiten von MAYNEIT u. VAN DYKE,

¹ Siehe H. SCHREIBER: Die Zwikker-Bedendorf-Reaktion. Arch. Toxikol. 17, 53 (1958).

von AWE u. WINKLER und von SCHWENKER verwiesen. Es handelt sich hier lediglich um eine Gruppenreaktion, die zwischen den einzelnen Barbitalen oder auch ihren Oxydationsprodukten nicht zu unterscheiden gestattet. PAULUS u. PRIBILLA sowie AWE und WINKLER haben neuerdings versucht, die Kobalt-Reaktion quantitativ spektrophotometrisch auszuwerten.

Eine weitere Farbreaktion, ebenfalls von ZWICKER erstmals beschrieben, ist die *Kupfersulfatpyridinprobe*. Sie kann in Lösung oder mit Trockensubstanz ausgeführt werden. Barbiturate werden violett, Thiobarbiturate grün (RAVENTÓS, HEISE u. KIMBEL). Nach unseren Erfahrungen ist die Probe bei violetter Farbreaktion nur als Hinweis auf Barbitale zu verwerfen. Bei grüner Farbreaktion ist Zurückhaltung geboten, da auch mit Hippursäure eine Grünfärbung eintritt. Die Kupfersulfatpyridinkomplexe wurden von LEVI u. HUBLEY infrarotspektrophisch genauer untersucht.

Komplexbildung. MOLLE verwendete MILLONS Reagens zum Nachweis von Veronal. PÉGURIER u. LEMAIRE empfahlen DENIGÈS Mercurisulfatlösung. Beide Reagentien ergeben mit verschiedenen Barbitalen eine Fällung bzw. Trübung. SCHNELLER gibt die Erfassungsgrenze mit 0.02%iger wäßriger Luminallösung an. PFEIL u. GOLDBACH haben auf der Quecksilbersalzbildung eine quantitative Barbitat-Bestimmung aufgebaut, indem sie das Quecksilber mit Dithizon colorimetrisch nachwiesen. Auch diese Probe ist nicht spezifisch. FABER gibt Xanthydroniederschläge von charakteristischem Schmelzpunkt an. Weitere zahlreiche Fällungsreagentien nennt UMBERGER (in GONZALES). Die meisten Methoden eignen sich wenig für biologisches Material und sind nicht besonders empfindlich.

Mikroschmelzpunktbestimmungen sollten stets durchgeführt werden (L. KOFLER), verlangen aber eine hochgradig gereinigte Substanz. Außerdem liegen die Schmelzpunkte vieler Barbitale untrennbar dicht beieinander, so daß eine Unterscheidung selbst nach Mischschmelzpunktbestimmung schwer möglich ist. Bei den Oxydationsprodukten verhält es sich ähnlich. Die im biologischen Material unvermeidlichen Beimengungen bedingen aber Schmelzpunktdepressionen, so daß die Literaturdaten nicht erreicht werden (PAULUS).

Kristalloptik. Die bisher beschriebenen Untersuchungsmöglichkeiten ließen eine sichere Identifizierung nur bei größerem Analysenmaterial zu, wobei Barbitat-Gemische kaum zu trennen waren. Wegen der Vielzahl von Barbitalen wurde das Bedürfnis nach einer genügend sicheren Unterscheidungsmöglichkeit immer größer.

Die Kristalloptik zur Bestimmung physikalischer Konstanten wird in der Analyse noch wenig verwendet. Die rein beschreibende Betrachtung der Kristalle wurde zwar schon vor mehr als 100 Jahren in der Toxikologie angewandt (HELWIG), aber sie hat zu berechtigter Kritik geführt, da sich am Äußeren der Kristalle vielfach Ähnlichkeiten auch bei verschiedenartiger chemischer Zusammensetzung zeigen. BRANDSTÄTTER hat deshalb die rein habituelle Beschreibung von Kristallderivaten durch TURFITT als ungenügend für eine Identifizierung der Barbitale abgelehnt. R. FISCHER aus der Schule von L. KOFLER sowie A. KOFLER haben kristalloptische Untersuchungen an pharmazeutischen Substanzen vorgenommen. R. FISCHER hat Kristallformen und einzelne kristalloptische Daten beim Nachweis von Schlafmitteln erwähnt, meistens nur die Lage der Auslöschungsrichtungen. HAAS untersuchte als erster in größerem Umfang Arzneimittelkristalle optisch, beachtete dabei die möglichen Modifikationen aber nur unvollständig, was L. KOFLER zu der Bemerkung veranlaßte, daß dieses Verfahren für die allgemeine Anwendung wohl zu schwierig sei, weil Fehlermöglichkeiten offenbar nicht einmal von Mineralogen ausgeschaltet werden könnten.

Wenn auch die Anwendung kristalloptischer Methoden in der Mikroanalyse eine langwierige Einarbeitung notwendig macht, so lohnt sich

die Mühe trotzdem, weil sie in vielen Fällen gerade für die toxikologische Praxis die Methode der Wahl darstellt. Mit sehr wenig Substanz (oft Bruchteile eines Gamma), die zudem nicht verbraucht wird, ist häufig eine Identifizierung möglich.

Genügende „Bestimmungsstücke“, wie z. B. *Kristallmorphologie* (obwohl sie nicht zur eigentlichen Optik gehört), *Flächenwinkel*, *Spaltflächen*, *Isotropie* und *Anisotropie*, Größe der *Doppelbrechung* (aus Interferenzfarben und Dicke), Lage der *Auslöschungsrichtungen*, *Brechungszahlen* und deren Zuordnung zu bestimmten Kristallrichtungen, *optischer Charakter*, *Einachsigkeit* oder *Zwischsichtigkeit*, *Lage und Winkelbeziehung der optischen Achsen*, *Achsendispersion*, *Dichroismus*, *Pleochroismus*, *Anomalien* lassen sich regelmäßig bei niedrig symmetrischen Kristallen finden, wobei eine Auswahl hiervon im allgemeinen genügt. Organische Substanzen sind in der Regel von niedriger Symmetrie, also rhombisch, monoklin oder triklin. Wir haben die kristalloptischen Daten der wichtigsten Barbitale (soweit noch nicht in dem Tabellenwerk von WINCHELL erfaßt) und ihrer Oxydationsprodukte gemessen. Insbesondere haben wir aber die gut meßbaren optischen Konstanten von Schwermetallhalogenkomplexen der Barbitale (nach LÜDY u. TENGER s. S. 133) bestimmt (zur Zeit in Vorbereitung). Zur Erzielung schöner Kristalle eignet sich wiederum die fraktionierte Vakuumsublimation. Da Barbitale eine geringe Sublimationsgeschwindigkeit haben und nur schwer kristallisieren, erweist sich diese Methode hier von besonderem Nutzen. Wo wir mit Hilfe der allgemein gebräuchlichen Mikrosublimation nach KOFLER nur glasartige harte Beläge erhielten, wurden im Vakuumrohr oft schöne Kristallisate beobachtet.

Die kristalloptische Untersuchung ist wesentlich empfindlicher und verträgt viel mehr Verunreinigungen, als die Schmelzpunktbestimmung. Das Auftreten von Modifikationen erweist sich als förderlich für die Diagnose, während es die Schmelzpunktbestimmung stört (GOLDBACH u. OPPER-SCHAUM). Für forensische Analysen ist die kristalloptische Identifizierung oft der Schlußstein aller diagnostischen chemisch-physikalischen Maßnahmen, denn die übrigen sehr empfindlichen Erkennungsmethoden organischer Gifte (Papierchromatographie + Spektrophotometrie) sind nicht spezifisch genug, für Schmelzpunkt- und Mischschmelzpunktbestimmungen reicht aber die Menge und der Reinheitsgrad der Ausbeute selten aus.

Zum Teil wurden auch röntgenographische Strukturanalysen vorgenommen und die Ergebnisse früherer Untersucher dadurch gefestigt. Die Röntgenfeinstrukturanalyse muß als wertvolles Hilfsmittel für die Erkennung kleiner Mengen mikrokristallinen Materials bezeichnet werden. Wir konnten bei einer Leiche nach 8 Wochen starker Fäulnis im Magen Phanodorm mittels Debye-Scherrer-Diagramm nachweisen.

HUANG hat in mehreren Veröffentlichungen einige Barbitale an Hand von Debye-Scherrer-Diagrammen untersucht und z. B. durch Vergleich der Kristallformen von Vakuumsublimaten das Auftreten von 4 Modifikationen beim Veronal bestätigen können. Beim Luminal fand er sogar zwei bisher noch unbekannte Modifikationen, von denen eine einen Schmelzpunkt von 177° hat. Bisher waren von Luminal 5 Modifikationen (Fp. zwischen 155 und 175° nach KOFLER) bekannt. Dagegen war es ihm nicht möglich, bei Numal die von BRANDSTÄTTER angegebenen 4 Modifikationen zu finden, sondern er bekam immer nur drei mit den Schmelzpunkten 133° , 139° und 142° .

Die Bestätigung der durch Schmelzpunktbestimmungen ermittelten Polymorphieerscheinungen durch röntgenologische Feinstrukturanalytik ist daher unbedingt anzustreben, aber bisher noch kaum durchgeführt worden. Die Identifizierung verschiedener Modifikationen einer Substanz kann schließlich am besten infrarotspektrophotometrisch erfolgen. Erfassungsgrenze etwa 200γ .

Für die praktische Untersuchung kleinster Substanzmengen kristallisierter Materie genügen aber in den meisten Fällen die kristalloptischen Methoden. Voraussetzung ist hierbei, daß genügend gut ausgebildete Einzelkristalle vorliegen, die mehr als etwa 30μ lang und nicht allzu schmal sind. Werden solche Kristalle nicht erzielt, kann man sich auf andere Weise helfen. Für unsere Zwecke haben sich besonders die Schwermetall-Halogen-Reagentien von LÜDY-TENGER bewährt.

Zunächst aber benutzt man vorteilhaft die Mikrosublimation auf dem Kofler-Gerät, um bei langsam ansteigender Temperatur das Wachstum der Kristalle zu beobachten bis zur Bestimmung der Schmelztemperatur (dies nach Wechseln des untergelegten Objektträgers und Entfernung des Glasbänkchens). Bei niedriger Temperatur sind meistens die instabilen und metastabilen Formen zu erzielen, die sich erst bei höherer Temperatur in die stabile Modifikation umwandeln. Sind diese Modifikationen bekannt und aus früheren Beobachtungen dem Untersucher geläufig, so ist es vielfach ein leichtes, bereits beim Auftauchen der ersten Kristalle eine bestimmte Substanz zu diagnostizieren. Als Beispiel sei das Veronal genannt, das in ganz verschiedener Weise auskristallisiert. Auf dem Mikroheiztisch nach KOFLER findet man bei 120° Sublimationstemperatur die IV. Modifikation (Fp. 176°), die von LINDPAINTER beschrieben wurde. Es handelt sich um rechtwinkelige Platten, die häufig parallel verwachsen sind und dem triklinen System angehören. Daraus entwickeln sich die monoklinen Nadeln der Modifikation III (Fp. 183°) und schließlich entstehen stabile (metastabile) Kristalle der Modifikation II, prismatische, flächenreiche Kristalle (Fp. 188°). Bei längerem Erhitzen über 150° bilden sich die trigonalen,

einachsigen Kristalle der stabilen Modifikation I (Fp. 191°). Diese wird nur selten entdeckt. Am häufigsten sind die Kristalle IV und II. Die letztgenannten (II) treten vor allem in Vakuumsublimaten auf.

Für die Erkennung kleinster Barbitale-Mengen aus biologischem Material und Unterscheidung der einzelnen Derivate hat sich uns die Komplexbildung mit Schwermetall-Halogen-Reagentien (LUDY-TEGGER) bestens bewährt. Diese Methode, von LANG u. STEPHAN sowie von ARNOLD besonders auf Barbitale angewandt, eignet sich als einzige auch für die Schnelldiagnostik bei Vergiftungsfällen. Man kann notfalls auch Rohextrakte mit diesen Reagentien behandeln und charakteristische Ergebnisse erzielen. Es gehört allerdings eine große Übung und Erfahrung dazu, die Bilder richtig einzuordnen, da eine große Zahl von Substanzen derartige Komplexe bilden kann. Beispielsweise kann man von den meisten Barbitalen Komplexkristalle erhalten, die sich auch bei großer chemischer Ähnlichkeit der Substituenten klar unterscheiden (FAHR). Auch die Oxydationsprodukte liefern zum Teil charakteristische Komplexe und die Acetureide und Malonursäuren sind gleichfalls in gut unterscheidbarer Form zu erkennen.

Wir haben deshalb die kristalloptische Untersuchung von Schwermetall-Halogen-Komplexen der Barbitale, Oxy- und Ketobarbitale und von Ringspaltprodukten durchgeführt.

Abschließend ist auf die bromhaltigen Barbitale Noctal, Pernocton, Vesperone, Eumareon, Sigmodal zu verweisen, bei deren Nachweis die Untersuchung des Harns oder sonstigen Materials auf Brom (in organischer bzw. anorganischer Bindung) von Nutzen sein kann. Über eine einfache spezifische Brombestimmung im Harn und in anderem biologischen Material wird an anderem Orte berichtet (SCHMIDT u. BÖTTCHER).

Untersuchungsergebnisse bei den einzelnen Barbitalen, insbesondere bei Barbitale-Vergiftungen

Veronal. Bis vor kurzem herrschte die Auffassung, daß Veronal praktisch unverändert und zu 70–90% der aufgenommenen Menge mit dem Urin ausgeschieden wird. Unsere bisherigen Erfahrungen entsprechen diesen Literaturangaben. 1957 erschien eine Arbeit von GOLDSCHMIDT u. WEHR über den Metabolismus von Veronal. Diese Autoren fanden im Rattenurin nach Verabreichung von 2 (¹⁴C-markiertem Veronal neben etwa 95% des unveränderten Mittels etwa 0,8% 5-(β -Hydroxyäthyl)-5-äthyl-Barbitursäure (I), etwa 2,5% 5-Äthylbarbitursäure (II) und etwa 2,0% als Paarungsprodukt von (I). Bei der Reaktionsweise der übrigen Barbitale, die alle mehr oder weniger stark abgebaut werden, überrascht diese Entdeckung nicht. Veronal hatte bisher eine Art Sonderstellung, weil es als einziges Barbitale ohne Abbauvorgänge den Organismus passieren sollte. Man schrieb diese Fähigkeit

der Stabilität der Äthylgruppen im Organismus zu, die in der Regel nicht verändert werden. In der letzten Zeit sind jedoch von einem weiteren Schlafmittel (Doriden), dessen chemische Formel Phenyl-äthyl-Glutar-säureimid lautet, Abbaumechanismen bekannt geworden (KEBRLE u. HOFFMANN, HOFFMANN, KEBRLE u. SCHMID), in deren Verlauf ebenfalls eine Äthylgruppe abgespalten wird, so daß Phenylglutarsäureimid zur Ausscheidung gelangt. Wenn man eine Parallele zur Phenyläthyl-barbitursäure (Luminal) zieht, so wären hier nach dem gleichen Schema ähnliche Abbauprodukte zu erwarten. Die einzelnen Reaktionsstufen des Äthylgruppenabbaues konnten beim Doriden noch nicht völlig aufgeklärt werden. Möglich scheint wie beim Veronal die β -Hydroxylierung zu sein.

Die Ergebnisse von GOLDSCHMIDT u. WEHR konnten bisher beim Menschen nicht bestätigt werden. Wir selbst haben bei zahlreichen Veronal-Vergiftungen keine entsprechenden Beobachtungen machen können, sondern stets nur die Reinsubstanz gefunden. Papierchromatographisch hätten sich aber die Abbauprodukte nachweisen lassen müssen, auch wenn nur wenige Prozent der aufgenommenen Dosis vorhanden gewesen wären. GOLDSCHMIDT u. WEHR haben als R_f -Werte (in n-Butanol, gesättigt mit 2n-Ammoniak absteigend) für Veronal 0,58, für (I) 0,22 und für (II) 0,17 angegeben. Das Paarungsprodukt bleibt am Start sitzen. Mit geringen Schwankungen wären die gleichen Flecken auch bei der von uns verwendeten aufsteigenden Methode mit n-Butanol-5n-Ammoniak zu erwarten. Sie liegen allerdings im Bereich der R_f -Werte von normalen Harnsubstanzen, die mit HgNO_3 Flecken liefern, so daß sie unter Umständen schwer zu erkennen sind. Es ist aber auch zu bedenken, daß bei therapeutischen Dosen die Erfassungsgrenze kaum erreicht wird, wenn sich ähnliche Prozentmengen wie bei der Ratte ergeben sollten. Weiterhin ist es durchaus möglich, daß der Mensch diesen Abbau wie er bei der weißen Ratte beobachtet wurde, nicht zuwege bringt, vor allem nicht bei Vergiftungen mit allgemeiner Stoffwechselretardierung, auf die bereits aufmerksam gemacht wurde. Ähnliche Überlegungen sind auch bei Vergiftungen mit anderen Barbitalen notwendig. Man wird aber in Anbetracht der Ergebnisse von GOLDSCHMIDT u. WEHR bei der Beurteilung von papierchromatographischen Befunden vorsichtig sein müssen und beim Vorhandensein von Abbauprodukten Veronal nicht ausschließen dürfen.

Bei den Veronal-Vergiftungen, deren Nachweis wegen der großen Ausscheidungsmengen (meist über 10 mg-% im Urin) und der langen Ausscheidungsdauer im allgemeinen nicht schwierig ist, fiel uns auf, daß die normalen sauren Harnbestandteile, Benzoesäure und Hippursäure desto geringer vorhanden waren, je höher der Barbital-Spiegel war.

Luminal. Bei den von uns beobachteten Versuchen mit therapeutischen Mengen war die Aufnahme von 0.1 g Luminal papierchromatographisch nach 6, 15 und 24 Std gut nachweisbar. Das unveränderte Luminal ist in solchen Fällen in geringerer Menge vorhanden, als ein Umwandlungsprodukt, das im ammoniakalischen Laufmittelgemisch R_f 0.2 hat. Es findet sich im sauren und im bicarbonatneutralen Extraktückstand. Auch bei Versuchen mit anderen Barbitalen fiel auf, daß entweder bei ungenügender Extraktion der angesäuerten Lösung oder bei Ausscheidung in gebundener Form erst im bicarbonatneutralen Extrakt Barbitale in Erscheinung traten, wobei es sich in der Regel um Oxydationsprodukte mit intaktem Barbitursäure-Ring handelte. Beim Luminal war es vermutlich p-Hydroxyphenyläthylbarbitursäure, die von BUTLER u. Mitarb., von CURRY, sowie von ALGERI u. WALKER gefunden wurde. Wir konnten diese Verbindung aus Harn noch nicht isolieren, aber synthetisch darstellen.

Bei tödlichen Luminal-Vergiftungen konnten wir bisher noch nie ein Umwandlungsprodukt des Luminals nachweisen oder auch nur wahrscheinlich machen, sondern nur unverändertes Luminal finden. Bei Vergiftungen, die überlebt wurden, waren durch die therapeutischen Maßnahmen die im Harn vorhandenen Substanzen nicht mehr klar genug überschaubar, um aus dem Vorfinden eines unbekannten Stoffes auf das Oxydationsprodukt des Luminals schließen zu können. Unsere Ergebnisse stehen mit den bisher veröffentlichten Angaben der übrigen Toxikologen in Einklang und auch MOHR-SCHULZ, der besonders auf Umwandlungsprodukte geachtet hat, konnte nur in einem Fall (nach intramuskulärer Injektion von 5 ml einer 20%igen Luminal-Natrium-Lösung) zwei auf Abbauprodukte verdächtige Flecken finden, von denen einer (sehr geringe Menge) R_f 0.4 im Isopropanol-Chloroform-Ammoniak-Gemisch hatte, der andere 0.03.

Phenyläthylacetylharnstoff, ein mögliches Abbauprodukt des Luminals konnten wir in praktischen Fällen bisher nie nachweisen. Auch bei experimenteller Fäulnis war Luminal gut haltbar und erst nach 2jähriger Aufbewahrung gelang es uns, aus einer Harnprobe mit Luminal-Natrium-Zusatz neben einer großen Menge Luminal eine kleinere Fraktion abzutrennen, die sich als Phenyläthylacetylharnstoff erwies. Wir benutzen das Ausmittlungsverfahren von ASPELUND und SKOGLUND und isolierten die Substanzen durch die beschriebene fraktionierende Vakuum-sublimationsmethode.

Aus Luminal konnten wir auf verschiedenen Wegen Phenyläthylacetylharnstoff zu Vergleichszwecken herstellen. Besonders rein konnte Luminal bei 3 tödlichen Vergiftungen aus den formalinfixierten Gehirnen isoliert werden. Es war zu einem großen Prozentsatz in die Fixierungsflüssigkeit übergegangen. Auch hier war trotz

sorgfältiger Untersuchung weder ein Oxydationsprodukt mit erhaltenem Barbiturat-Ring, noch ein Ringspaltungsprodukt des Luminals zu finden. *Formalin verhindert offenbar die hydrolytische Barbiturat-Zersetzung.* SUNSHINE u. HACKETT verwendeten formalinfixiertes Gewebe zum Barbituratnachweis.

Phanodorm. Nach Phanodormaufnahme fanden wir papierchromatographisch fast stets das unveränderte Mittel in geringer Menge neben einem Abbauprodukt. Dieses hatte im alkalischen Laufmittelgemisch den R_f -Wert 0.23, im sauren 0.7—0.8. Zur Klärung der Frage, ob es sich hierbei um die von FRETWURST, HALBERKANN u. REICHE (1932) gefundene Verbindung Ketohexenyl-äthylbarbitursäure handelte, stellten wir nach dem von TSUKAMOTO, TAKABATAKE u. YOSHIMURA beschriebenen Verfahren (Chromsäureoxydation in Eisessig) diese Verbindung her. Dabei waren jedoch mindestens 3 Produkte mit fast gleichen Eigenschaften zu erhalten, wie die papierchromatographische Untersuchung zeigte, und wie sich teilweise auch aus der Vakuumsublimation des Syntheseproduktes ergab. Außer Spuren von unverändertem Phanodorm erhielten wir in der Hauptmenge eine Substanz, die auf dem Papier im alkalischen Laufmittelgemisch von 0,2—0,3 lief und *drei ineinander aufgehende Flecken* erkennen ließ. Die präparativ-papierchromatographische Reinigung ergab eine Substanz mit Fp. 218—222°. Dies stimmte mit den Angaben von FRETWURST u. Mitarb., sowie von TSUKAMOTO u. Mitarb. gut überein. Das Absorptionsspektrum im UV-Licht entsprach dem eines Barbiturats, dessen Minimum etwas zum kurzwelligen Spektralbereich hin verschoben war. Nach TSUKAMOTO ist dieser Effekt durch die Ketogruppe am Cyclohexenylring bedingt, weshalb er die Verbindung 3-Ketophanodorm nannte. Bei der fraktionierten Vakuumsublimation erhielten wir eine Substanz mit Fp. 211—213° und eine weitere mit Fp. 240—245°. Außerdem fand sich eine Substanz, die sich etwas weiter vom Rückstand kondensiert hatte, mit Fp. 138—140°. Während es sich bei der Hauptfraktion um 3-Ketophanodorm handelte, war neben Resten von unverändertem Phanodorm eine kleine Menge der hochschmelzenden, bisher unbekannten Substanz vorhanden, die nach ihren papierchromatographisch erkennbaren Eigenschaften dem 3-Ketophanodorm sehr ähnlich sein mußte. Nachdem wir die gereinigte Substanz mit Fp. 218 und 222° kristalloptisch untersucht und vor allem ihre Sublimationsformen unter verschiedenen Versuchsbedingungen kennengelernt hatten, fanden wir sie auch bei Vergiftungsfällen mehrfach wieder. Das Komplexbildungsvermögen ist weniger gut, als bei den unveränderten Barbitalen, doch lassen sich auch hier genügend Eigenschaften für die Sicherung der Diagnose erkennen.

Bei Versuchen mit jeweils einer Tablette war Phanodorm im Harn meistens bis 24 Std nach der Aufnahme zu finden. Mengen und zeitliche

Verteilung der Reinsubstanz und des Keto-Produktes, das übrigens auch nicht immer einheitlich war, variierte stark von Mensch zu Mensch. Teils konnten wir feststellen, daß die Hauptmenge des zur Ausscheidung gelangenden Phanodorms bereits im Morgenharn zu finden war (Aufnahme der Tablette am Spätabend vorher) und daß sich im Tagesharn praktisch nur noch „Ketophanodorm“ fand. In diesen Fällen war auch die Wirkung am Morgen abgeklungen. Wurde jedoch tagsüber noch unverändertes Phanodorm ausgeschieden, wobei gleichzeitig Ketophanodorm zunächst in geringer Menge auftrat, so klagte die Versuchsperson über Nachwirkungen bis zum Nachmittag, z. B. über leichte Benommenheit und Schläfrigkeit. *Derartige Zusammenhänge zwischen der chemischen Umwandlung und dem Abklingen der Wirkung* konnten wir auch bei anderen Schlafmitteln beobachten. Die papierchromatographischen Ergebnisse zeigen, daß sich im sauren, alkalischen und (am besten) im neutralen Extrakt das Phanodormumwandlungsprodukt finden läßt. Die R_f -Werte sind häufig etwas veränderlich, was nicht nur an der Labilität des Lösungsmittelgemisches, sondern auch an der Verschiedenheit der Extraktrückstände selbst liegt. Ist z. B. viel Benzoe- oder Hippursäure im Extrakt vorhanden, so wird der Ketophanodormfleck „hochgedrängt“ und die ursprünglichen R_f -Werte um 0.23 reichen bis 0.35. Bei Phanodormvergiftungen ist die Ausscheidung etwa 2—3 Tage lang zu verfolgen.

Auch bei Phanodorm sind wegen des großen Ausscheidungsdefizits noch weitere Stoffwechselsubstanzen zu vermuten, aber bisher nicht gefunden worden. Papierchromatographisch haben sich bei unseren Versuchen Anhaltspunkte für das Auftreten von UV-Licht absorbierenden Substanzen ergeben, die im alkalischen und bicarbonatneutralen Milieu durch Extraktion erfaßt werden und mit HgNO_3 nicht sichtbar zu machen sind.

Kürzlich fanden wir bei einer akut (höchstens nach mehreren Stunden) tödlich verlaufenen Phanodorm-Vergiftung (leider konnte nur der Harn der Leiche untersucht werden) große Mengen von 3-Ketophanodorm, aber keine Spur der unveränderten Substanz. Diese Beobachtung ist deshalb von Bedeutung, weil es auch unter Versuchstieren solche gibt, die Phanodorm nur in Form der Ketoprodukte ausscheiden und andere, die auch einen geringen Prozentsatz unveränderter Substanz im Urin aufweisen.

Prominal. Zwei Versuche mit je einer Tablette (Extrakt von 100 ml Harn, der 8 Std nach Tabletteneinnahme gelassen wurde) ergaben keine Hinweise auf körperfremde Substanzen, insbesondere nicht auf Prominal, Luminal oder Hydroxyluminal. Auch Wiederholungsuntersuchungen nach mehrmonatiger Fäulnis blieben ergebnislos.

Evipan. Nach Aufnahme von 2 Tabletten wurden papierchromatographisch keine Anhaltspunkte für Evipan oder für ein Abbauprodukt gefunden. Wir versuchten nach dem Vorgang von TOCHINO 3-Keto- und 3-Hydroxyevipan herzustellen, indem wir den Ascorbinsäure-Oxydationsmodellansatz nach BRODIE u. Mitarb. verwendeten. Es gelang ebenso wie bei TOCHINO, 3 Oxydationsprodukte zu erhalten, von denen zwei nach ihrem R_f -Wert (0,40 und 0,57 im Butanol-Ammoniakgemisch) mit den von TOCHINO bei seinen Versuchstieren ermittelten übereinstimmten. Von den Substanzen, über deren Eigenschaften gesondert berichtet wird, ergab die bei R_f 0,40 eluierte mit Schwermetallhalogenreagentien Komplexe, wie wir sie bei fraglichen Vergiftungsfällen bereits mehrfach beobachtet aber nicht identifiziert hatten. Vermutlich hatte es sich um die Aufnahme von Evipan gehandelt. MOHRSCHULZ gibt R_f -Werte für die von ihm beobachteten Evipanausscheidungsprodukte an, die mit denen von TOCHINO gut übereinstimmen. Interessanterweise konnte von ihm bei peroraler Evipan-Verabreichung das Vorhandensein von 5, bei intravenöser Gabe nur von 2 Abbauprodukten beobachtet werden.

Medomin. Bekanntlich verhält sich Medomin — entsprechend seiner chemischen Verwandtschaft — ähnlich wie Phanodorm im Organismus, was auch bei der Harnausscheidung zum Ausdruck kommt. Bei therapeutischer Medominaufnahme konnten wir nur papierchromatographisch in den ersten 12 Std Spuren des Ausscheidungsproduktes (R_f -Wert 0,2—0,3 im alkalischen Laufmittelgemisch) nachweisen, unveränderte Substanz war nicht zu finden. Da das Oxydationsprodukt, nach PULVER 3-Keto-Cycloheptenyläthylbarbitursäure (wir nennen es „3-Ketomedomin“), ebenfalls nur in kleinen Mengen zu finden war, konnte die Unterscheidung zwischen Phanodorm und Medomin nur indirekt aus dem Fehlen der unveränderten Substanz getroffen werden, was natürlich mit Unsicherheitsfaktoren belastet ist (s. Beobachtung S. 138). Wird unverändertes Medomin mit ausgeschieden, so ist die Erkennung meistens nicht schwierig, da sich die R_f -Werte von Medomin (0,72) und Phanodorm (0,60) zwar gering, aber deutlich unterscheiden. Bei Aufnahme sehr großer Mengen von Medomin, z. B. 20 Tabletten täglich, wie wir sie bei einem Opiatsüchtigen während einer Urinkontrollperiode beobachten konnten, traten auch Spuren von unverändertem Medomin neben größeren Mengen von 3-Ketomedomin auf, das durch fraktionierte Vakuumsublimation weitgehend gereinigt werden konnte. Daneben war mit Schwermetallhalogenreagentien Medomin nachzuweisen, das mit Hippursäure verunreinigt war. Die Komplexbildungsfähigkeit des Medominoxidationsproduktes, das einen Schmelzpunkt von 190 bis 200° hatte (nach PULVER 223°), war ebenso wie beim 3-Ketophanodorm gering. Nur langsam traten dunkelbraune Kristalloide auf, die sich aus

Schmelztropfen bildeten. Nach unseren bisherigen Untersuchungsergebnissen besteht sowohl bei Phanodorm wie bei Medomin der Eindruck, daß die Oxydationsprodukte als *Gemisch sehr ähnlicher Substanzen* vorliegen (Isomere?).

Die Untersuchungsergebnisse mit papierchromatographisch gereinigten Harnextrakten des Medominoxidationsproduktes lassen auch erkennen, daß nicht nur *eine*, sondern mindestens *zwei* Substanzen vorliegen. Möglicherweise handelt es sich um Isomere, deren Auftreten nebeneinander die Kristallisation erschwert. Bei dem genannten Süchtigen war die narkotische Komponente trotz der übergroßen Dosis stark in den Hintergrund getreten, wie dies bei Gewöhnung bei fast allen Barbitalen der Fall ist. Die Ausscheidung des 3-Ketomedomins war innerhalb weniger Tage auf sehr kleine Mengen abgesunken, wenn statt des Barbitals wieder Opiate aufgenommen worden waren. Tödliche Vergiftungen mit Medomin konnten wir nicht beobachten. Der Versuch, aus Medomin mit Hilfe der Chromsäureoxydation 3-Ketomedomin herzustellen, schlug fehl. Auch Versuche mit frischem Schweineleberbrei führten nicht zu der gewünschten Umwandlung.

Stadadorm. In mehreren Versuchen mit therapeutischer Dosierung war nach abendlicher Aufnahme von 0,2 g Stadadorm im Morgenharn das unveränderte Mittel neben einem Oxydationsprodukt nachzuweisen, das nach alkalischer und bicarbonatneutraler Extraktion mit einem R_f -Wert von 0,2–0,3 auf den Chromatogrammen, die im alkalischen Laufmittelgemisch entwickelt worden waren, zu finden ist. Am Tage darauf (36 Std nach der Tablettenaufnahme) war nur das unveränderte Stadadorm, nicht aber das Abbauprodukt nachzuweisen. Aus den Extrakten größerer Harnmengen konnte keine Substanz isoliert werden, die sich von den normalen Harnbestandteilen unterschied. In vermehrter Menge waren Benzoe- und Hippursäure nachzuweisen. MOHRSCHULZ fand ebenfalls unverändertes Stadadorm neben einer größeren Menge von 2 Umwandlungsprodukten. Seine R_f -Werte liegen hier in einer etwas anders zusammengesetzten Steiglosung insgesamt ein wenig höher als unsere (z. B. Stadadorm 0,85, während wir 0,75 beobachteten, und das Hauptausscheidungsprodukt bei 0,45, wir bei 0,2–0,3). Auch bei Stadadorm konnten wir mit Hilfe der Chromsäureoxydation trotz mehrfacher Ansätze bisher noch kein Oxydationsprodukt synthetisieren.

Vesperone. Bei einer überlebten Vergiftung mit Vesperone (Aufnahme unbekannter Mengen in Selbstmordabsicht, mehrstündiges Koma) wurden in den übersandten sehr kleinen Harnmengen 2 Barbitale gefunden, die den R_f -Wert 0,65 im NH_3 -Gemisch und (vermutlich ein Oxydationsprodukt) 0,25 hatten. Beide waren in etwa gleichen Mengen vorhanden. Reinsubstanz hat einen R_f -Wert von etwa 0,75, aber mit

deutlicher Schwanzbildung nach unten, was für beginnende hydrolytische Bromabspaltung spricht. Daraufhin wurden Versuche mit therapeutischer Dosierung durchgeführt. Nach Aufnahme von 0,3 g — 2 Tabletten Vesperone am Abend war am nächsten Tag noch eine gewisse Benommenheit bis zum Nachmittag vorhanden. In den Harnextrakten (Morgen- und Nachmittagsharn) wurde jeweils ein Umwandlungsprodukt in gerade noch erfaßbarer Menge gefunden und Spuren der Reinsubstanz. Der R_f -Wert lag bei 0,65 und 0,25. Beide Substanzen hatten die für Barbitale obligate UV-Absorptionskurve. Die höher wandernde Substanz ging in den bei saurer Reaktion hergestellten Ätherextrakt über, während das zweite Produkt im alkalischen und im bicarbonatneutralen Extraktückstand zu finden war. Anzeichen für ein Umwandlungsprodukt ergaben sich aus dem Auftreten eines weiteren Fleckes mit charakteristischer Absorption dicht unterhalb der ersten Substanz. 36 Std nach Tablettenaufnahme waren die genannten Substanzen noch deutlich nachzuweisen, die aufgefundene Menge war eher größer als am ersten Tag.

Trapanal = Thiopental. Die Ausscheidungsprodukte des Trapanal wurden eingehend untersucht. Über die erzielten Ergebnisse wurde bereits berichtet (SCHMIDT u. AROLD). Als Thiobarbiturat, das nur intravenös verwendet wird, hat dieses Präparat, ebenso wie die anderen Thiobarbiturate nur geringes forensisches Interesse.

Weiterhin wurden mit Nembutal (— Pentobarbital-Na), Numal (im Allional und Somnifen), Amyl-allylbarbitursäure (im Tempidorm), Butabarbital und Secobarbital (beide im Tridomal und Trisomin) sowie Sandoptal (im Optalidon) Versuche durchgeführt, doch sind die Ergebnisse für eine Berichterstattung noch nicht ausreichend.

Bei unseren Untersuchungen zeigten sich die überaus großen Schwierigkeiten einer sicheren Erkennung von Barbitalen in den Körperorganen oder -ausscheidungen. Nur die häufiger verwendeten Derivate sind bisher soweit bekannt, daß Aussicht auf erfolgreiche Erkennung im Vergiftungsfall besteht. Ein empfindlicher Mangel ist es bei der Untersuchung von seltenen Barbitalen, wenn keine Vergleichssubstanz der fraglichen Oxydations- und Spaltprodukte zur Verfügung steht. Solche *Vergleichssubstanzen* sind aber Voraussetzung für die erfolgreiche Analyse, wenn keine Anhaltspunkte für die Art des aufgenommenen Mittels gegeben sind. Wir haben deshalb versucht, uns Vergleichssubstanzen zu schaffen, einmal aus Vergiftungsfällen, dann durch Chromsäureoxydation, Ascorbinsäureoxydation, Biotransformation und Synthese. In manchen Fällen ist es gelungen, die entsprechenden Keto- bzw. Oxyderivate zu bekommen, bei anderen wieder hatten wir bisher keinen Erfolg. Ringspaltprodukte lassen sich verhältnismäßig leicht

nach dem Vorgehen von ASPELUND u. SKOGLUND aus Barbitalen darstellen, was wir bei einer Reihe von Derivaten bisher durchgeführt haben. Acetureide sind die praktisch wichtigsten Ringspaltprodukte, während die Malonursäuren eine wenig beständige Vorstufe darstellen. Besonders aussichtsreich scheint die Oxydation aromatischer Substanzen mit Ascorbinsäure unter Anwesenheit von Eisen-II-Ionen in komplexer Form zu sein, wie unsere ersten Versuche in dieser Richtung zeigten. Nach BRODIE u. Mitarb. wird mit diesem Oxydationsmodellsystem gerade der Eingriff am Molekül nachgeahmt, der in vivo zu beobachten ist. *Damit ist also ein Weg für die gezielte Darstellung von Biotransformationsprodukten gezeigt, der einfacher sein dürfte als der chemisch präparative Prozeß.* Er kann vielleicht auch bei fraglichen Vergiftungsfällen mit neueren Präparaten beschritten werden, wenn noch keine Stoffwechselprodukte dieser Substanz bekannt sind.

Zusammenfassung

Die meisten Schlafmittelvergiftungen entstehen durch Aufnahme barbitursäurehaltiger Präparate. *Der intravitale Abbau* oder besser gesagt die im Organismus erfolgende oxydative Entgiftung führt bei den meisten Barbitalen zum Auftreten charakteristischer Umwandlungsprodukte, die häufig überwiegend (z. B. bei Phanodorm) oder allein (z. B. bei Medomin) in den Körperflüssigkeiten und -organen nachgewiesen werden können. Die Kenntnis dieser Veränderungen ist für eine erfolversprechende toxikologische Analyse Voraussetzung. Im ersten Teil der Arbeit wurde daher ein Überblick über den derzeitigen Stand der Kenntnisse auf dem Gebiet der intravitale Umwandlungsvorgänge von Barbitalen gegeben. Gegenüber zahlreichen tierexperimentellen Ergebnissen sind die Vorgänge im menschlichen Körper noch weniger bekannt. Es ist zu erwarten, daß mit den in der letzten Zeit verfeinerten modernen analytischen Methoden weitere experimentelle Beiträge zu diesem Fragenkomplex erscheinen und daß auch zunehmend bei Vergiftungsfällen Einblicke in spezifisch menschliche Abbau- und Ausscheidungsverhältnisse gewonnen werden. Die tabellarische Zusammenstellung der wichtigsten Daten soll den Überblick erleichtern.

Die Umwandlungsprodukte der Barbitale sollten in vermehrtem Maße bei der forensisch-toxikologischen Analyse berücksichtigt werden.

Notwendig ist hierfür aber auch die Kenntnis der postmortalen Veränderungen der Gifte und ihrer Stoffwechselsubstanzen. Die in vitro möglichen Hydrolysen, die den Barbitursäurering vorwiegend zu Acetureiden, schließlich aber auch bis zur substituierten Essigsäure aufspalten, könnten auch bei der Fäulnis und Alterung von Körperflüssigkeiten auftreten. Unsere Untersuchungsergebnisse zeigen, daß im asservierten Harn noch nach 2 Jahren die unveränderte Substanz

(z. B. bei Veronal, Luminal, Phanodorm) zu finden ist und daß nur ein kleiner Teil im ammoniakalischen Milieu hydrolytisch aufgespalten wird. Acetureide wurden von uns nie in vivo, sondern lediglich bei experimenteller Fäulnis gefunden. Einige leicht zersetzliche Barbitale (Evipan, Stadadorm, Eunarcon) entziehen sich bei Fäulnis dem Nachweis.

In der Leiche ist der Nachweis abhängig von der Art der Substitution des Barbitals, also von dem speziellen Präparat. Abbau und Ausscheidung verlangen sehr empfindliche Nachweismethoden, die zudem bei gefaultem Untersuchungsmaterial erst nach durchgreifender Reinigung und bei Wirkstoffgemischen nach sorgfältiger Trennung angewendet werden können. Hier ist besonders wichtig, daß *Oxydationsprodukte* mindestens ebenso fäulnisstabil zu sein scheinen wie die Ausgangssubstanzen, daß sie besser wasserlöslich sind und sich am besten mit Essigester extrahieren lassen.

Die in biologischem Material nach dem Tode auftretenden *Bakterien* scheinen Barbitale nicht zersetzen zu können. Andererseits wird auch das Bakterienwachstum durch Barbitale in biologischem Material nicht gehemmt.

Entscheidend für den Erfolg der toxikologisch-chemischen Analyse ist in erster Linie die Endkonzentration der Barbitale und ihrer Umwandlungsprodukte in den zur Untersuchung gelangenden Körperflüssigkeiten oder -organen. Bei mehrtägigem Verlauf einer Barbital-Vergiftung kann sie auf Null abgesunken sein.

In zweiter Linie aber hängt das Ergebnis von den *Methoden* ab, mit denen untersucht wird. Wegen der großen Bedeutung der Auswahl geeigneter Methoden haben wir die gebräuchlichen Verfahren kritisch referiert und versucht, zur Verbesserung der analytischen Möglichkeiten beizutragen.

Durch *fraktionierte Vakuumsublimation* in einem einfachen Gerät gelingt in einem Arbeitsgang die quantitative Reinigung und Trennung von Inhaltsstoffen der Rohextrakte. Mit Hilfe *kristalloptischer Methoden* sind sehr kleine Mengen kristallisierter Substanzen zu identifizieren, während die *papierchromatographische Untersuchung* mehr den Rang einer empfindlichen orientierenden Vorprobe hat. *Mikroschmelzpunktsbestimmungen und Schmelzpunktsbestimmungen der Gemische* sind immer anzustreben, aber bei den kleinen Ausbeuten aus biologischem Material selten möglich und bereits bei geringer Verunreinigung empfindlich gestört. Gruppenspezifisch sind weitgehend die *Kobalt-Amin-Reaktionen* und die *spektrophotometrische Messung der UV-Absorption*, präparate-spezifisch kann dagegen bei großer Empfindlichkeit und geringer Anfälligkeit gegen Verunreinigungen die Bildung von *Schwermetallhalogenkomplexen* bei Berücksichtigung ihrer gut meßbaren kristalloptischen Konstanten sein. Ein empfindlicher (2–3 γ) einfacher *Bromnachweis*

erleichtert die Unterscheidung zwischen bromhaltigen und bromfreien Barbitalen. Schließlich sind Vergleichssubstanzen notwendig, für deren Herstellung mehrere Verfahren genannt und untersucht wurden. Besondere Erwähnung verdient die *Oxydation mit Ascorbinsäure* nach BRODIE zur Gewinnung der in vivo auftretenden Substanzen und die *hydrolytische Spaltung* nach ASPELUND u. SKOGLUND für die Darstellung von Ringspaltprodukten, die postmortal und in vitro gebildet werden können. Ausführlich wird über die genannten Verfahren an anderer Stelle berichtet.

Mit den genannten Nachweismethoden ist in vielen Fällen sowohl im Rahmen der klinischen Diagnostik mit dem hierbei gebotenen geringen Zeitaufwand wie auch bei der forensisch-toxikologischen Analyse eine Erkennung von Art und Menge des oder der aufgenommenen Barbitale möglich, auch wenn nur wenig Untersuchungsmaterial zur Verfügung steht.

Die Wirkungsart und -dauer der Barbitale ist je nach Substitution des Barbitursäureringes großen Schwankungen unterworfen, die im Vergiftungsverlauf auch zum Ausdruck kommen. *Der Nachweis des einzelnen Barbitals über die Gruppendiagnostik hinweis ist deshalb sowohl für klinische wie für gerichtsmedizinische und kriminalistische Zwecke notwendig.*

Literatur

- ADEBAHR, G.: Anatomische Befunde bei Schlafmittelvergiftung. Frankfurt. Z. Path. **67**, 485 (1956). — ALGERI, E. J., and A. J. McBay: The identification of pentobarbital by paper chromatography in a medicolegal death. New Engl. J. Med. **248**, 423–424 (1953). — ALGERI, E. J., and J. T. WALKER: Paper chromatography for identification of the common Barbiturates. Amer. J. clin. Path. **22**, 37 (1952). — ASPELUND, H., u. L. SKOGLUND: Die Beständigkeit der Natriumsalze einiger Schlafmittel der Barbitursäurereihe in Lösung. Acta Acad. aboensis **10**, 10 (1937). — AUTHENRIETH, W., u. K. H. BAUER: Die Auffindung der Gifte und stark wirkender Arzneistoffe. Dresden u. Leipzig: Theodor Steinhoff 1943. — AWE, W., u. W. WINKLER: Zur Kenntnis der Zwickerschen Reaktion. Arzneimittelforsch. **5**, 578 (1955). — BAeyer, A. V.: Untersuchung über die Harnsauregruppen. Liebigs Ann. **127**, 199 (1863); **130**, 139 (1864). — BALÁSZ, J.: Schlafmittelvergiftungen. Samml. Vergiftungsf. **5**, C 26 (1934). — BAUER, K. H., u. H. MOLL: Die organische Analyse. Leipzig: Akademische Verlagsgesellschaft 1954. — BAUR, H.: Der bewußtlose Patient mit exogener Intoxikation. Mkurse ärztl. Fortbild. **5**, 243 (1955). — BEHRENS, M., u. A. FISCHER: Zerlegung von Stoffgemischen und Identifizierung von chemischen Substanzen durch Verdampfung und Kondensierung in einem Wärmegradienten. Naturwissenschaften **41**, 1 (1954). — BLOCK, W., u. I. ERIGT: Zum Stoffwechsel radioaktiv markierter Barbiturate und Thiobarbiturate. I. Mitt. Ausscheidung der Radioaktivität. Arzneimittelforsch. **9**, 572 (1957). — BOEDECKER, F., u. H. LUDWIG: Über Noctal und Pernocton. III. Verhalten im Organismus. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmac. **139**, 353 (1929). — BRANDSTÄTTER, M.: Zur Identifizierung von Barbitursäurederivaten. Mikrochemie **38**, 68 (1951). — BRODIE, B. B.: The fate of pentobarbital in man and dog and a method for its

estimation in biological material. *J. Pharmacol. exp. Ther.* **109**, 26—34 (1953). — BRODIE, B. B., J. AXELROD, SHORE and S. UDENFRIEND: Ascorbic acid in aromatic hydroxylation. I. A model system for aromatic hydroxylation. *J. Biochem. (Tokyo)* **208**, 731 (1954). — BURMESTER, K.: Eine papierchromatographische Methode zum Nachweis kleinster Barbituratmengen im Urin mit weitgehender Unterscheidungsmöglichkeit der einzelnen Barbitursäureschlafmittel. Diss. Hamburg 1955. — BUSH, M. T., T. C. BUTLER and H. L. DICKSON: The metabolic fate of 5-(1-cyclohexen-1-yl) 1,5-dimethyl barbituric acid (Hexobarbital, Evipal) and of 5-(1-cyclohexen-1-yl)-5-methyl barbituric acid (Nor-Evipal). *J. Pharmacol. exp. Ther.* **108**, 104 (1953). — BUTLER, T. C.: Quantitative studies of the metabolic fate of mephobarbital (n-methylphenobarbital). *J. Pharmacol. exp. Ther.* **106**, 235 (1952). — Further studies of metabolic removal of alkyl groups from nitrogen in barbituric acid derivatives. *Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.)* **84**, 105 bis 108 (1953). — Metabolic oxydation of phenobarbital to p-hydroxyphenobarbital. *Science* **120**, 494 (1954). — The metabolic hydroxylation of phenobarbital. *J. Pharmacol. exp. Ther.* **116**, 326 (1956). — BUTLER, T. C., and M. T. BUSH: The metabolic fate of N-methyl-barbituric acids. *J. Pharmacol. exp. Ther.* **65**, 205 (1939). — BUTLER, T. C., D. MAHAFFEE and C. MAHAFFEE: The role of the liver in the metabolic disposition of mephobarbital. *J. Pharmacol. exp. Ther.* **106**, 364 (1952). — BUTLER, T. C., C. MAHAFFEE and W. J. WADELL: Phenobarbital: studies of elimination, accumulation, tolerance and dosage schedules. *J. Pharmacol. exp. Ther.* **111**, 425—435 (1954). — CAMERON, G. R., and G. S. W. DE SARAM: The effect of liverdamage on the action of some barbiturates. *J. Path. Bact.* **48**, 49 (1939). — CARRINGTON, A. C., and G. RAVENTÓS: Kemithal: A new intravenous anesthetic. *Brit. J. Pharmacol.* **1**, 215 (1946). — COMMERELL, C., u. K. SOEHRING: Schlafmittelvergiftungen in Hamburg (1945—1948). *Samml. Vergiftungsf.* **14**, 92 (1952). — COOPER, J. R., u. B. B. BRODIE: *Zit. TAKABATAKE*. — CURREY, A. S.: A note on the paperchromatographic separation of phenobarbitone metabolites. *J. Pharm. (Lond.)* **7**, 604 (1955). — DEININGER, R.: Papierchromatographischer Nachweis der Barbitursäuren. *Arzneimittel-Forsch.* **5**, 472 (1955). — DIETZ, W.: Untersuchungen über Nachweis und Abbau von Thiobarbituraten. *Arzneimittel-Forsch.* **7**, 413 (1956). — DONATELLI, L.: *Narcosi e narcotici Barbiturici*. Napoli 1954. — DOREMAN, A., and L. R. GOLDBAUM: Detoxification of barbiturates. *J. Pharmacol. exp. Ther.* **90**, 330 (1947). — DYKE, H. B. v., J. V. SCUDI u. D. L. TABERN: The excretion of N¹⁵ in the urine of dogs after the administration of labeled pentobarbital. *J. Pharmacol. exp. Ther.* **90**, 364 (1947). — FABRE, R.: Etude de la fixation des dérivés barbituriques sur les glandes endocrines. *C. R. Soc. Biol. (Paris)* **116**, 280 (1934). — FAHR, W.: Diss. Erlangen 1954. — FISCHER, H.: Schlafmittel. In *Handwörterbuch der gerichtlichen Medizin und naturwissenschaftlichen Kriminalistik* von F. v. NEUREITER, F. PIETRUSKY u. E. SCHÜTT. Berlin: Springer 1940. — FISCHER, R.: Der toxikologische Nachweis von Schlafmitteln. *Arch. Pharm. (Weinheim)* **277**, 305 (1939). — FRETWURST, F.: Abbau von Natriumbarbituraten in wäßriger Lösung bei 37° C. *Arzneimittelforsch.* **8**, 44 (1958). — FRETWURST, F., J. HALBERKANN u. F. REICHE: Phandorm und seine Wiederausscheidung im Harn. *Münch. med. Wschr.* **1932**, 1429. — Über das Allional als Schlafmittel und die Wiederausscheidung seiner Barbitursäurekomponente, des Numals durch den Harn. *Münch. med. Wschr.* **1930**, 1401. — FRITSCHKE, R.: Über Medomin, ein neues Schlafmittel. *Praxis* **31**, 740 (1942). — GADAMER, J.: *Lehrbuch der chemischen Toxikologie und Anleitung zur Ausmittelung der Gifte*, 2. Aufl. Göttingen 1924. — GLET, E.: Über den Verbleib des Kurznarkotikums „Eunaron“ im Organismus. *Klin. Wschr.* **1937**, 456. — GOLDBACH, H. J., u. R. OPFER-SCHAUM: Bemerkungen zu der Arbeit von W. PAULUS: Der qualitative

Barbituratnachweis in der forensischen Praxis. *Mikrochemie* **39**, 263 (1952). — GOLDSCHMIDT, S., u. R. WEHR: Der Metabolismus von Veronal. *Z. physiol. Chem.* **308**, 9 (1957). — GONZALES, A. TH., M. VANCE, M. HELPERN u. CH. J. UMBERGER: Legal medicine pathology and toxicology. 2. Aufl. New York: Appleton-Century-Crofts 1954. — GOODMAN, L., and A. GILMAN: The pharmacological basis of the therapeutics. 2. Aufl. New York: Macmillan & Co. 1956. — GREINER, u. FRIEDRICH: *Chem. Fabrik* **1**, 91 (1928); **2**, 90 (1929). — GRIEG, A.: Paperchromatographic separation of barbiturates. *Nature (Lond.)* **170**, 845 (1952). — GROTE, F.: Zur Behandlung der Schlaflosigkeit. *Untersuchungen über das neue Schlafmittel Medomin*. Schweiz. med. Wschr. **1942**, 1333. HAAS, W.: Kristalloptische Untersuchungen. *Emich-Festschrift* 1930. — Über Vakuummikrosublimation synthetischer Arzneistoffe und Identifizierung der Sublimate auf kristalloptischem Wege. Diss. Zürich 1930. — HALBERKANN, J., u. F. REICHE: Über die Ausscheidung einiger viel verwendeter Barbitursäureverbindungen mit dem Urin. Münch. med. Wschr. **1927**, 1450. — HAMBOURGER W. E.: Die unterschiedlose Anwendung von Barbituraten. II. Analyse von Krankenhausangaben. *J. Amer. med. Ass.* **114**, 2015 (1940). — HANDORE, H.: Ein neues Prinzip zum Nachweis der Veronalgruppe. Kritische Beiträge zur Diagnose der Veronalintoxikation. *Z. ges. exp. Med.* **28**, 56 (1922). — HAYASHI, O., and A. KORNBERG: Metabolism of cytosine, thymine, uracil and barbituric acid by bacterial enzymes. *J. biol. Chem.* **197**, 717 (1952). — HEISE, E., u. K. H. KIMBEL: Nachweis und quantitative Bestimmung von Thiobarbitursäurederivaten. *Arzneimittel-Forsch.* **5**, 149 (1955). — HELWIG, A.: Das Mikroskop in der Toxikologie. Münz: Viktor v. Zabern 1865. — HENDRYCH, F.: Veramon-Vergiftungen. *Samml. Vergiftungst.* **5**, C77 (1934). — HERWICK, R. P.: The determination of barbituric acid derivatives in urine and tissues. *Arch. int. Pharmacodyn.* **45**, 160 (1933). — HIRSCHFELDER, A. D., and V. G. HARRY: Effect of nephrectomy on duration of action of barbiturates. *Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.)* **30**, 1059 (1933). — HOFFMANN, K., J. KEBBLE u. H. J. SCHMID: Über die Synthese einiger Glutarsäureimide. *Helv. chim. Acta* **40**, 387 (1957). — HUANG, T.-Y.: The identification of derivatives of barbituric acid by x-ray analysis. Teil I, II u. III. *Acta pharm. int. (Kbh.)* **2**, 95 (1951). — ITALLIE, L. V., u. A. J. STEENHAUSER: Mikrochemische Erkennung einiger Barbitursäureverbindungen. *Mikrochemie. Emich-Festschrift* 1930, S. 166. — JANCUS, A.: Vakuumsublimation mit dem Wärmegradienten von M. BEHRENS. Diss. Erlangen 1956. — JATZKEWITZ, H.: Ein klinisches Verfahren zur Bestimmung von basischen Suchtmitteln im Harn. Hoppe-Seyler's *Z. physiol. Chem.* **1953**, 292. KAISER, H.: Beiträge zum toxikologischen Nachweis wichtiger Barbitursäure-derivate unter besonderer Berücksichtigung der Mikrosublimation im Vakuum. Stuttgart: Verlag der Südd. Apothekerzeitung 1932. — KEBBLE, J., u. K. HOFFMANN: Über den biologischen Abbau von Glutarsäureimiden. *Helv. chim. Acta* **39**, 767 (1956). — Über den biologischen Abbau eines Glutarsäureimids. *Experientia (Basel)* **12** (1), 21 (1956). — KELLY, A. R., and F. E. SHIDEMAN: Liver as the major organ involved in the detoxication of thiopental by the dog. *Fed. Proc.* **8**, 306 (1949). — KLEINDORFER, G. B., and J. T. HALSEY: Untersuchung der relativen Wirksamkeit von Avertin, Amytal, Chloral, Dial u. Isopropylallylbarbitursäure als „Basismarkotika“. *J. Pharmacol. exp. Ther.* **43**, 449 (1931). — KÖNIG, W., u. H. KLUGE: Über den Nachweis von Luminal im Harn. *Chem.-Ztg* **1930**, 451. — KÖFLER, L.: Mikroskopische Methoden in der Mikrochemie. *Mikrochem.* **36/37**, 283 (1951). — Mikromethoden zur Kennzeichnung organischer Stoffe und Stoffgemische. In: HOPPE-SEYLER THIERFELDERS Handbuch der physiologischen und pathologisch-chemischen Analyse, 10. Aufl., Bd. I, Teil 1, S. 285. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1953. — KÖFLER, L., u. A. KÖFLER: Thermomikromethoden.

Weinheim: Verlag Chemie 1954. — KOHN-ABREST, E., H. VILLARD et L. CAPUS: Présence des sulfocyanures dans l'organisme humain. Transformation post mortem du véronal, dial. gardenal en composés cyanhydriques. Conséquences en toxicologie. C. R. Acad. Sci (Paris) **190**, 281—284 (1930). — KOPPANYI, TH.: Essential elimination of sodium cyclohexenyl-ethyl-barbiturate (Medomin) in rabbits. J. Amer. Ass. sci. **1955**. — Acute barbiturate poisoning. J. forensic Med. **4**, 65 (1957). — KOPPANYI, TH., M. W. GREEN and C. R. LINEGAR: Note on the behavior of sulfonamids in the cobaltcolor tests for barbiturates. J. Amer. pharm. Ass. **30**, 246 (1941). — KOPPANYI, TH., u. S. KROP: Studies on barbiturates VI. The elimination of isoamylethylbarbituric acid (Amytal) and n-butyl-ethyl-barbituric acid (Neonal). J. Pharmacol. exp. Ther. **52**, 87 (1934). — KOZELKA, F. L., D. E. NELSON u. H. J. TATUM: A method for the determination of barbituric acid derivatives in tusses and bdy fluids. J. Pharmacol. exp. Ther. **67**, 71 (1939). — KRAUTWALD, A.: Wirkung und Verhalten von Phanodorm und Noctal bei chronischer Zufuhr. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmak. **186**, 513 (1937). — KÜHN, A.: Studien über den Veronalnachweis im Harn. Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. **13**, 115 (1929). — LANG, W., u. H. STEPHAN: Über die mikrochemische Identifizierung von Schlafmitteln in der toxikologischen Praxis. Süddtsch. Apoth.-Ztg **90**, 739 (1950). — LARA, F. J. S.: On the decomposition of pyrimidines by bacteria. J. Bact. **64**, 271, 279 (1952). — LAVES, W.: Zit. WEINIG. — LESCHKE, E.: Fortschritte in der Erkennung und Behandlung der wichtigsten Vergiftungen. Münch. med. Wschr. **1931 II**, 1600. — LEVI, L., and C. E. HUBLEY: Detection and identification of clinically important barbiturates. Analyt. Chem. **28**, 1591 (1956). — LINDEPAINTER, E.: Mikroskopische Untersuchungen an polymorphen Substanzen. Mikrochem. **27**, 21 (1939). — LUDWIG, H.: Über die „Giftigkeit“ der Barbitursäuren. Ärztl. Praxis **6** (15), 7 (1954). — LÜDY-TENGER, F.: Einige mikrochemische Identitätsreaktionen für die pharmazeutische Praxis. Pharm. Acta Helv. **9**, 385 (1944). — LUNDY, J. S.: Intravenous Anaesthesia. Anesth. and Analg. **9**, 210 (1930). — LUNDY, J. S., and A. E. OSTERBERG: Review of the literature on the derivatives of barbituric acid. Chemistry, pharmacology, clinical use. Proc. Mayo Clin. **4**, 386 (1929). — MADSEN: Zit. ASPELUND u. SKOGLUND. — MANZ, R.: Tod nach Einnahme von Optalidon bei chronischer Myocarditis. Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. **34**, 380 (1941). — MARK, L. C.: Fate of pentothal in man. Fed. Proc. **8**, 318 (1949). — MARRI, R.: Einiges über 214 Vergiftungsfälle mit Schlafmitteln der Barbitursäurereihe. Samml. Vergiftungsf. C **51**, 3 (1939). — MARTIN, S. J., H. C. HERRLICH u. B. B. CLARK: The effect of various tissues on the detoxification of evipal in the dog. Anesthesiology **1**, 153 (1940). — MASSON, G. M. C., and E. BELAND: Influence of the liver and the kidney on the duration of anesthesia produced by barbiturates. Anesthesiology **6**, 483 (1945). — MAYNERT, E. W.: Aethyl-(3-hydroxyisoamyl)-barbitursäure als Hauptausscheidungsprodukt von Amytal. J. biol. Chem. **195**, 397 (1952). — MAYNERT, E. W., and J. M. DAWSON: Ethyl-(3-hydroxy-1-methyl-butyl)-barbituric acids as metabolites of pentobarbital. J. biol. Chem. **195**, 389 (1952). — MAYNERT, E. W., and H. B. VAN DYKE: The metabolism of barbiturates. Pharmacol. Rev. **1**, 217 (1949). — The metabolic fate of pentobarbital. J. Pharmacol. exp. Ther. **98**, 174 (1950). — MAYNERT, E. W., and L. LOSIN: The metabolism of butabarbital (Butisol) in the dog. J. Pharmacol. exp. Ther. **115**, 275 (1955). — MICHAELIS, T.: Zit. WEINIG. — MOHRSCHEULZ, W.: Versuche zur papierchromatographischen Reinigung von Schlafmittelgiften im Urin. Arch. Pharm. (Weinheim) **289**, 508 (1956). — MOLLE, B.: Zit. A. HOFMANN, Über Ausscheidung des Veronals bei chronischem Veronalgebrauch. Diss. Gießen 1906. — MOLLE, B., u. H. KLEIST: Veronal. Arch. Pharm. (Weinheim) **242**, 401 (1904). — MONOD, J., et E. WOLLMANN: L'inhibition de la

croissante et de l'adaptation enzymatique chez les bactéries infectées par le bactériophage. Ann. Inst. Pasteur **73**, 937 (1947). — MOUSEL, L., and J. S. LUNDY: The role of the liver and the kidney from the standpoint of the anesthetist. Anesthesiology **1**, 40 (1940). — MURPHY, W. S., and T. KOPANYI: Effect of barbiturates in experimental nephrosis. J. Pharmacol. exp. Ther. **52**, 70 (1934). — NIELSEN: Zit. ASPELUND u. SKOGLUND. — NITO, G. DE: Synergisierung der Magnesium- und Barbitursäurenarkose durch Acetylcholin und Ergotamin. Boll. Soc. ital. Biol. sper. **12**, 240–42 (1937). — NOLTE, E.: Über den Nachweis von Luminal. Pharm. Z. **65**, 320 (1920). — OETTEL, H.: Luminalvergiftungen und Luminalnachweis. Samml. Vergiftungsf. **6** (A 483), 43 (1935). — Die approximative Schnellbestimmung des Barbiturgehaltes im Harn und in Arzneimitteln. Arch. Pharm. (Weinheim) **274**, 1 (1936). — PALMIERI, V. M., et C. ROMANO: La chromatographie de partage supapier. Acta med. leg. soc. (Liege) **6**, 239 (1953). PAULUS, W.: Der qualitative Barbituratnachweis in der forensischen Praxis. Mikrochemie u. Mikrochim. Acta (Wien) **38**, 566 (1951); **39**, 266 (1952). — PAULUS, W., u. O. PRIBILLA: Die Bedeutung des puantitativen Barbituratnachweises in der Muskulatur bei Schlafmittelvergiftungen. Samml. Vergiftungsf. **14**, 284 (1953). — Spektrophotometrische Messungen zur Kobaltreaktion der Barbiturate. Arzneimittel-Forsch. **3**, 478 (1953). — Die Veronalausscheidung bei Gesunden unter verschiedenen Bedingungen und bei Herz- und Nierenkranken. Arch. Toxikol. **15**, 60 (1954). — PFEIL, E., u. H.-J. GOLDBACH: Die Mikrobestimmung der Barbiturate. Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **302**, 263 (1955). — PFEIL, E., u. G. HUBNER: Der Nachweis von Barbituraten. Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **296**, 225 (1954). — PRATT, T. W., H. W. VANLANDINGHAM, E. E. TALLEY, J. M. NELSON u. E. O. JOHNSON: Studies of the liver function of dogs. Amer. J. Physiol. **102**, 148 (1932). — PULVER, R.: Der chemische Abbau von Medomin im Organismus Schweiz. med. Wschr. **1943**, 124. — RAVENTOS, J.: Method for the estimation of barbituric acids and thiobarbituric acids in biological materials. Brit. J. Pharmacol. **1**, 210 (1946). — The distribution in the body and metabolic fate of barbiturates. J. Pharmacol. Chemother. **1**, 217 (1954). — REICHE, F., u. J. HALBERKANN: Über Curral und seine Wiederausscheidung mit dem Harn. Münch. med. Wschr. **1929**, 235. — RILEY, R. F., R. F. KRAUSE, L. T. STEADMAN, F. E. HUNTER and H. C. HODGE: Color reaction of barbiturates. Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.) **45**, 424 (1940). — ROBBINS, B. H., J. H. BAXTER and O. G. FITZHU: Studies of cyclopropane. The effect of morphine, barbital and amytal upon the concentration of cyclopropane in the blood required for anesthesia and respiratory arrest. J. Pharmacol. exp. Ther. **65**, 136 (1939). — ROBINSON, C. C.: Preliminary of improved hypnotic and sedative due to synergistic action of calcium with phenobarbital. J. Indiana Med. Ass. **28**, 662 (1935). — ROTH, L. J., E. LEIFER, J. R. HOGNESS and W. H. LANGHAM: The metabolism of radioactive pentobarbital in mice. J. Biol. Chem. **178**, 963 (1949). — ROTONDARO, F. A.: The separation and determination of phenobarbital in solutions. J. Ass. agric. Chem. **23** (1940). — ROWBOTHAM, S.: Barbiturates as basal hypnotics. Lancet **1931**, 439. — RUIKOPF, H.: Über die Hydrolyse substituierter Barbitursäuren. Ber. dtsch. chem. Ges. **1940 II**, 938. — SCHMIDT, G.: Kristalloptische Nachweismethoden in der forensischen Toxikologie. Zeiss-Mitt. **1**, 95 (1957). — SCHMIDT, G., u. B. AROLD: Über die Nachweisbarkeit von Trapanal (= Pentothal) im Harn. Arch. Toxikol. **16**, 50 (1956). — SCHMIDT, G.: Papierchromatographischer Bromnachweis im Harn. Noch unveröffentlicht. — SCHMIDT, O.: Zit. bei D. LORKE. Postmortale pH -Messungen an der Oberfläche und in der Tiefe tierischer Organe. Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. **42**, 173 (1953). — SCHNELLER, J.: Das Luminal und sein gerichtsarztlicher Nachweis. Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. **7**, 259 (1926). — SCHWENKER, G.: Ein Beitrag zur Kenntnis der

Reaktion von 5,5-disubstituierten Barbitursäuren mit Kobalt (II)-Salzen und Aminen in organischen Lösungsmitteln. Diss. Techn. Hochschule Karlsruhe 1956. — SEIFERT, R.: Papierchromatographische Erfassung einiger wichtiger Barbitursäurederivate. *Arzneimittel-Forsch.* **7**, 413 (1956). — SHONLE, H. A., A. K. KELTCH, G. F. KEMPF and E. E. SWANSON: The question of elimination of barbituric acid derivatives in the urine with special reference to isoamylethyl barbituric acid (sodium amyltal) and 1-methyl-butyl ethyl barbituric acid (pentobarbital sodium). *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **49**, 393 (1933). — SPECHT, W., u. E. KOOTZ: Die Grenze der mikrochemischen Nachweisbarkeit von Veronal in faulem Organmaterial. *Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med.* **37**, 346 (1943). — STAS, J. S.: Recherches médico-légales sur la nicotine, suivies de quelques considérations sur la manière générale des déceler les alcalis organiques dans le cas d'empoisonnement. *Bull. Acad. roy. Méd. Belg.* **11**, 202—313 (1851). — STOLL, U.: Über Ätiologie, Pathogenese und Klinik der Harninfektionen mit Bacterium Proteus. Diss. Marburg 1950. — STORMONT, M. F., J. LAMPE and O. W. BARLOW: Ein Vergleich der Praemedikationsmenge mehrerer Barbitursäurederivate in Beziehung zur Lachgasanaesthesie. *J. Pharmacol. exp. Ther.* **39**, 165 (1930). — SUNSHINE, I.: The incidence of barbiturate intoxication observed at the Cuyahoga County Coroner's Office. *J. forensic Sci.* **1**, 109 (1956). — SUNSHINE, I., and E. HACKETT: Chemical findings in cases of fatal barbiturate intoxications. *J. forensic Sci.* **2**, 149 (1957). — TAKABATAKE, E.: The in vitro metabolism of ethylhexabital by rat liver slices. *Pharm. Bull. (S. Francisco)* **3**, 398 (1955). — TATUM, A. L.: The present status of the barbiturate problem. *Physiol. Rev.* **19**, 472 (1939). — TATUM, A. L., D. E. NELSON and F. L. KOZELKA: A study of the effects of morphine and of carbon tetrachloride on the rate of disappearance of ethylisoamyl barbituric acid. *J. Pharmacol. exp. Ther.* **72**, 123 (1941). — TAYLOR, J. D., R. K. RICHARDS and D. L. TABERN: Metabolism of S^{35} thiopental (pentothal). *J. Pharmacol. exp. Ther.* **104**, 93 (1952). — TITUS, E., and H. WEISS: The use of biologically prepared radioactive indicators in metabolic studies; metabolism of pentobarbital. *J. biol. Chem.* **214**, 807 (1955). — TOCHINO, J.: Studies of 5-cyclohexenyl-1,5-dimethyl-barbituric acid (Evipan). *Wakayama med. Rep.* **3**, 27 (1956). — 3 weitere Arbeiten in japanischer Sprache. Ztschr. nicht bekannt, 1956. Englische Titel: Oxydation of barbituric acid derivatives with model ascorbic acid system. — The relation between the metabolism of cyclopan and ascorbic acid. — Studies of 5-cyclohexenyl-1,5-dimethyl barbituric acid. The II. report with special reference to its metabolism. — TSUKAMOTO, H., E. TAKABATAKE and A. TOSHIHIKO: Metabolism of drugs. V. Excretion rate of a metabolite of ethylhexabital. *Pharm. Bull. (S. Francisco)* **3**, 459 (1955). — TSUKAMOTO, H., and A. YAMAMOTO: The metabolic fate of p-aminosalicylic acid in the rabbit. *Pharm. Bull. (S. Francisco)* **3**, 427 (1955). — TSUKAMOTO, H., and H. YOSHIMURA: The metabolic fate of methylhexabital (5-cyclohexenyl-3,5-dimethylbarbituric acid). *Pharm. Bull. (S. Francisco)* **3**, 397 (1955). — TSUKAMOTO, H., H. YOSHIMURA and S. TOKI: The metabolic fate of ethylhexabital (5-cyclohexenyl-5-ethyl-barbituric acid). *Pharm. Bull. (S. Francisco)* **3**, 239 (1955). — TURFITT, G. E.: The identification of the clinically important barbiturates. *Quart. J. Pharm.* **21**, 1 (1948). — UMBERGER, C. J.: In Gonzales, Nance, Helpern, Umberger. — WEESE, H.: Pharmakologie des intravenösen Kurznarkotikums Evipan-Natrium. *Dtsch. med. Wschr.* **1933**, 47. — WEINIG, E.: Gerichtliche Vergiftungslehre. In *Lehrbuch der gerichtlichen Medizin* von A. PONSOLD. Stuttgart: Georg Thieme 1957. — Die Nachweisbarkeit von Giften in exhumierten Leichen. Vortr. anläßl. der Jverslg der Dtsch. Ges. für Gerichtl. u. Soc. Med., Heidelberg, 1957. — WEINIG, E., u. H. JAHN: Die kriminalistische Bedeutung der Ausscheidung von Arzneimitteln im Schweiß. *Dtsch. Z. ges.*

gerichtl. Med. **43**, 370 (1954). — WEINIG, E., u. G. SCHMIDT: Über die Ausscheidung von Arzneimitteln im Schweiß und deren Nachweis in Körperwasche. Kriminalwissenschaft, Beil. z. Kriminalistik H. 3 54. — WEINIG, E., u. W. SCHWERD: Alkohol-Barbiturat-Synergismus. Fortsch. Med. **74**, 497 (1956). — WINCHELL, A. N.: The optimal properties of organic compounds. New York: Academic Press 1954. — WINTERS, W. D., E. SPECTOR, D. P. WALLACH and F. E. SHIDEMAN: Identification of pentobarbital as a product of the in vitro metabolism of thiopental. Fed. Proc. **14**, 395 (1955). — ZWIKKER, J.: Het aantoonen en het afzonderen von barbitalen bij het toxicologisch onderzoek. Pharm. Weekbl. **68**, 975 (1931). — Recherches et isolement des barbitales dans les expertises toxicologiques. J. Pharm. Chim. (Paris) **19**, 189 (1934).

Privatdozent Dr. med. GEORG SCHMIDT, Erlangen.
Institut für gerichtliche Medizin und Kriminalistik der Universität

Sonderabdruck aus Heft 3, 1959, der

MIKROCHIMICA ACTA

Schriftleitung: *M. K. Zacherl*, Wien

Springer-Verlag in Wien

Alle Rechte vorbehalten

Georg Schmidt:

Ein Vakuumsublimationsgerät zur Trennung und Reinigung
kleiner Substanzmengen

Aus dem Institut für gerichtliche Medizin der Universität Erlangen

Ein Vakuumsublimationsgerät zur Trennung und Reinigung kleiner Substanzmengen*

Von

Georg Schmidt

Mit 6 Abbildungen

(Eingegangen am 3. Dezember 1958)

Wenn auch seit mehr als 100 Jahren Mikrosublimationen mit den verschiedensten Apparaten durchgeführt werden, so ist trotzdem die Weiterentwicklung dieser Technik noch im Gange. In der Mikrochemie gibt es viele Anwendungsmöglichkeiten für die Sublimation als Reinigungs- und Trennverfahren, doch werden sie nicht ausgeschöpft. Nicht nur für die Toxikologie gilt auch heute noch, was *Kaiser*¹ bereits 1932 ausgesprochen hat, daß dieses Verfahren noch zu wenig bekannt ist. *Matz*² hat 1958 darauf verwiesen, daß sich die Sublimationstechnik von allen Verfahren in den letzten Jahrzehnten am langsamsten entwickelt hat. Er nennt eine Reihe von Vorteilen bei der Anwendung der Sublimation im technischen Bereich.

In der Mikrochemie ist die Sublimation überall dort von Vorteil, wo Substanzen in kristalliner Form gewonnen werden sollen, um sie von Ballaststoffen zu trennen oder um die physikalisch-chemischen Eigenschaften dieser Zustandsform für die Identifizierung heranzuziehen. Seit den Arbeiten von *Kofler*³ und seiner Schule sind Mikrosublimationsverfahren vor allem in der Pharmazie und Toxikologie mehr und mehr in Gebrauch gekommen.

Auf der Suche nach einem Gerät zur fraktionierten Mikrosublimation im Vakuum sind wir auf den Temperaturgradienten von *M. Behrens* und *A. Fischer*⁴ gestoßen. In Vereinfachung des Prinzips von *Behrens*⁴ haben

* Teilweise vorgetragen am 7. Februar 1957 vor dem Ortsverband Nordbayern der Gesellschaft Deutscher Chemiker und am 1. November 1958 vor dem Arbeitskreis Südwestdeutschland der Fachgruppe Lebensmittelchemie und gerichtliche Chemie der Gesellschaft Deutscher Chemiker.

wir ein Gerät entwickelt, das sich für Routineuntersuchungen bei der toxikologischen Mikroanalyse eignet und seit 4 Jahren bewährt hat. Man kann damit kleine Substanzmengen durch Vakuumsublimation in einem Arbeitsgang trennen und die Substanzfraktionen bequem quantitativ zurückgewinnen. Das Gerät ist einfach und zeitsparend zu handhaben.

Ausführliche, mit Abbildungen der verschiedenen Geräte versehene Darstellungen der Entwicklung der Mikrosublimationsverfahren finden sich bei *Kempff*, *Lieb* und *Schöniger*⁶, *Cheronis*⁷ und *Hammerschmidt*⁸; hinsichtlich der Sublimation im Fein- und Hochvakuum verweisen wir auf *Jaeckel*⁹. Eine Fraktionierung führten wohl erstmals *Schunk* und *Römer*¹⁰ zur Trennung von Alizarin, Iso- und Flavopurin durch. Mit Geräten, die nach dem Prinzip des Apparates von *Kofler* und *Hilbck*¹¹ arbeiten, lassen sich Fraktionierungen durchführen, erfordern jedoch einen ziemlichen Arbeits- und Zeitaufwand, wenn man quantitative Ergebnisse erzielen will. Teilweise wurden auch schon bei Objektträgersublimationen, besonders aber bei Vakuumsublimationsgeräten¹² gekühlte Rezipienten angewandt. Diese verbessern zwar die Ausbeute, erschweren aber die Fraktionierung. Der viel verwendete Vakuumsublimationsapparat nach *Eder*¹³ hat den Nachteil, daß das Wechseln der Rezipienten bei Fraktionierungen störend ist, weil immer wieder von neuem evakuiert werden muß. Ähnliches gilt auch für das Gerät nach *Kofler* und *Dernbach*¹⁴. Nennenswerte Verluste sind hierbei unvermeidlich, besonders bei stark vermindertem Druck.

Eine Fraktionierung durch andeutete Temperaturgradienten ermöglichten bereits Apparaturen nach dem Heizblockprinzip von *Rosenthaler*¹⁵, *Pregl*¹⁶, *Gettler*, *Umberger* und *Goldbaum*¹⁷ sowie *Flaschenträger* und Mitarb.¹⁸. Die senkrechte Anordnung hat dabei den Nachteil, daß Substanzen bei der Umbildung von Kristallen („Umspringen“ von Kristallen während der Substanzablagerung wird oft beobachtet) in den Heizraum zurückfallen können, weshalb die horizontale oder schräge Arbeitsweise zu bevorzugen ist. *Behrens* und *Fischer*³ stellten durch einfache Umwicklung eines Glasrohres mit elektrisch heizbarem Widerstandsdraht einen möglichst linearen Temperaturgradienten her und sublimierten waagrecht unter verschiedenen Bedingungen. Entweder wurde das Sublimationsrohr zuerst eingeführt und dann allmählich angeheizt, wodurch die Sublimatfraktionen schließlich eine Endposition erreichten und eine gute Trennwirkung erzielt wurde, oder sie führten das Sublimationsrohr in den bereits angeheizten Temperaturgradienten mit Hilfe eines Uhrwerkes langsam ein. Auch das sofortige Sublimieren im bereits angeheizten Temperaturgradienten erwies sich als brauchbar. Diese Methode gestattet, ähnlich wie die von *Flaschenträger* und Mitarb.¹⁸ erst kürzlich angegebene, eine Fraktionierung bei zahlreichen Substanzen, die sich in ihrer Sublimationsgeschwindigkeit unterscheiden. Schwierigkeiten bereitet lediglich das Herausholen der Kristallisate aus dem Rohr. *Behrens* und *Fischer* führten dies ebenso wie *Flaschenträger* und Mitarb. durch Anritzen und Absprengen des Rohres durch. Glassplitterung läßt sich hierbei nicht ganz vermeiden. Dann muß die Substanz mechanisch oder nach Auflösung aus den Rohrstücken entfernt werden. Zur Vereinfachung haben *Flaschenträger* und Mitarb. teilweise mit einem Sublimationsrohr gearbeitet, das aus vier durch Schiffe verbundenen Teilen bestand. Die Herstellung hochvakuumdichter Schiffe erwies sich jedoch als schwierig, so daß später ein einfaches Weichglasrohr vorgezogen und nach der Fraktionierung zerschnitten

wurde. *Askew* und Mitarb.¹⁹, die ein ähnliches Temperaturgradientenprinzip wie *Behrens* und *Fischer* für die Fraktionierung von Destillaten aus Ergosterinbestrahlungsprodukten im Kathodenstrahlvakuum anwendeten, benützten ein 1,5 m langes Eisenrohr von etwa 35 oder 55 mm Durchmesser, das sie mit Asbest umwickelten und mit elektrischem Widerstandsdraht beheizen, so daß ein Temperaturgradient zwischen 140 und 120° von einem zum anderen Ende entstand. In das Eisenrohr wurden einzelne Glasrohrstücke lückenlos eingeführt, auf deren Innenwänden sich die Destillatfraktionen niederschlugen, so daß sie später bequem entnommen werden konnten.

Da die Schwierigkeit der Wiedergewinnung von Sublimaten in kristallisiertem Zustand bei der Verwendung von Sublimationsrohren

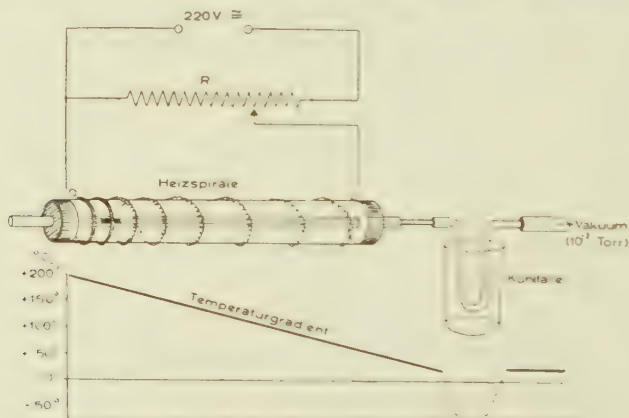


Abb. 1. Schema und Schaltung des Sublimationsgerätes

aus Glas nicht ganz ausgeschaltet werden konnte, haben wir das Sublimationsrohr mit einer hitzebeständigen Kunststoff-Folie ausgekleidet und im übrigen ein Gerät nach dem Prinzip von *Behrens* und *Fischer* verwendet. Die Auskleidung mit einer hitzebeständigen Folie wurde bereits von *Gottler*, *Umberger* und *Goldbaum*¹⁷ durchgeführt, wobei diese allerdings vertikal sublimierten und eine Folie amerikanischer Herkunft spiralförmig einlegten.

Beschreibung des Gerätes

Unter Anwendung des Prinzips des Temperaturgradienten nach *Askew* und Mitarb. sowie nach *Behrens* und *Fischer* wurde folgende Apparatur (schematische Darstellung Abb. 1) hergestellt:

Ein Glasrohr (Wicklungsrohr) von etwa 45 cm Länge und 2,5 cm Weite trägt die Heizspirale von 100 W Leistungsaufnahme. Darin wird ein 8 bis 9 mm weites Führungsrohr aus Glas zentral gelagert (Abb. 2), in das das Vakuumrohr mit 3 bis 4 mm lichter Weite (aus Weichglas) eingeführt wird. Das Sublimationsrohr (Vakuumrohr) ist mit einer

Kunststoff-Folie ausgekleidet. Das Ganze umgibt ein Mantelrohr von etwa 5 cm Durchmesser, das Außenluftbewegungen und damit Temperaturschwankungen möglichst abschirmen soll. Mantelrohr, Wicklungsrohr und Führungsrohr sind aus Jenaer Glas hergestellt und müssen gut getempert sein. In das Heizrohr und das Mantelrohr sind je 3 Reihen dicht stehender Luftlöcher eingeblasen, die eine Konvektion der unterschiedlich erwärmten Luft in dem Gerät in horizontaler Richtung unterbinden und in vertikaler Richtung verstärken sollen. Da die Rohre durchsichtig sind, kann während der Sublimation das Auftreten von Substanzzonen gut verfolgt werden. Das Gerät ist auf einem Fuß horizontal gelagert. In dem Gehäuse sind ein Regelwiderstand sowie Stromzuleitungen, Schalter und Sicherung eingebaut (Abb. 3)*. Eine lineare Skala ermöglicht bei bestimmter Stromstärke die Eichung des Temperaturgradienten zwischen Spitzentemperaturen von 200 bis über 350° C.

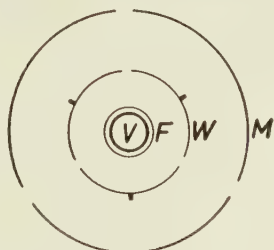


Abb. 2. Querschnitt durch das Gerät

V = Vakuumrohr mit Folie,
F = Führungsrohr,
W = Wicklungsrohr,
M = Mantelrohr

Arbeitsweise

Wir arbeiten meistens mit einem Druck von 1 bis 0,01 mm Hg. Für manche Substanzen genügt auch Wasserstrahlpumpenvakuum²⁰. Die



Abb. 3. Sublimationsgerät

Kühlung des Rohrendes zur Vermeidung von Verlusten leicht flüchtiger Bestandteile des Sublimationsgutes kann durch eine Kühlfalle nach dem in Abb. 1 angedeuteten Prinzip durchgeführt werden, einfacher ist es

* In dieser Form wird das Gerät von der Firma Willi Günther, Nürnberg, Humboldtstraße 37, hergestellt.

jedoch, auf das herausragende Ende des genügend langen Sublimationsrohres einen Kunststoffbeutel locker aufzulegen, der mit Eiswasser gefüllt ist.

Bei der Verwendung von Kunststoff-Folien besteht die größte Schwierigkeit darin, solche mit genügender Thermostabilität zu bekommen. Bisher haben wir mit der Hostaphanfolie**, einer Polyterephthalsäureesterfolie mit guten mechanischen und chemischen Eigenschaften (siehe Abb. 4, Sp. 245, Erweichungstemperatur etwa 150°), die besten

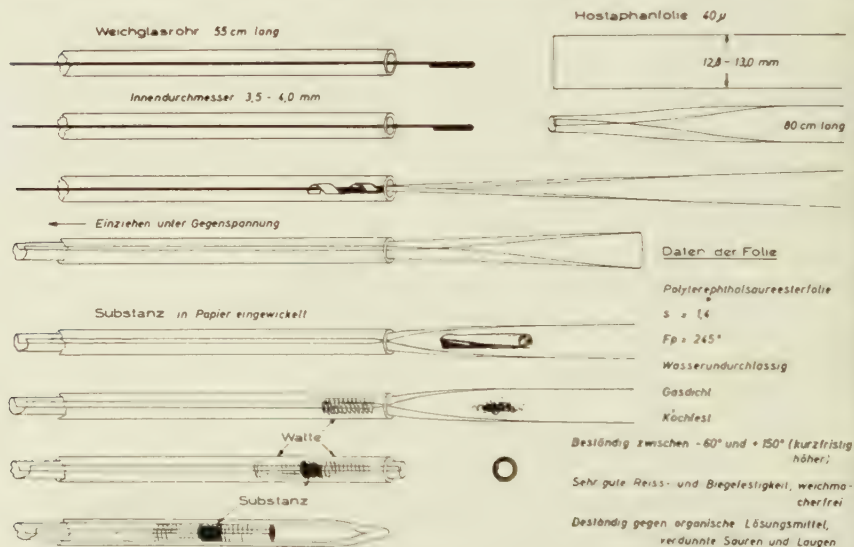


Abb. 4. Einführung der Folie und des Sublimationsgutes

Erfahrungen gemacht. Die Folie kann unbedenklich bei Sublimationen bis 200° in dem von uns verwendeten Gerät benützt werden, da die mechanische Beanspruchung im Rohr unbedeutend ist und da die Folie erst nach Erreichung des Schmelzpunktes mit der Rohrwand verklebt. Der Gewichtsverlust der Folie nach 10 Minuten Sublimation bei 180° und 0,1 mm Hg beträgt 0,4 mg, das heißt etwa 1⁰/₁₀₀. Die Folie kann also auch nach dem Sublimieren aus dem Rohr wieder entfernt werden. Dies hat für die Wiedergewinnung der Sublimat in unverändertem Zustand so große Vorteile, daß sich die geringe Mühe des Einlegens der Folie in das Sublimationsrohr durchaus lohnt. Das Einziehen der Folie und das Einbringen des Sublimationsgutes sind bei Übung sehr einfach (siehe Abb. 4). Man führt eine Drahtöse durch das Rohr, an der das Ende eines entsprechend zugeschnittenen Folienstreifens durch mehrfaches Umwickeln

** Firma Kalle, Wiesbaden.

nach Faltung befestigt wird. Dann wird die Folie unter Gegenspannung durch das Rohr gezogen. Die Substanz wird in fein verteilter Form oder bei schmierigem Untersuchungsmaterial (z. B. Extraktückstände aus biologischem Material) auf Seidenpapier aufgestrichen oder neuerdings auf Aluminiumfolie²⁰ aufgebracht und diese als Hülse eingerollt in die Folie gelegt. Man kann auch Watte verwenden, was sich besonders bei sehr geringfügigen Extraktückständen empfiehlt, die man direkt auf Watte eindampfen kann. Besser sind grobgekörnte Substanzen, z. B. Bimssteinpulver, Kochsalz oder Natriumsulfat. Die Hostaphanfolie mit dem Sublimationsgut wird dann so weit in das Rohr hineingezogen, daß das Rohrende zugeschmolzen werden kann.

Nach Durchführung der Sublimation läßt sich, wie bereits erwähnt, die Folie wieder aus dem Rohr herausziehen, falls die Temperatur von 245° am heißesten Teil des Rohres nicht überschritten wurde. Für die meisten organischen Substanzen genügen Temperaturen unter 200° im Gipfelbereich des Gradienten, wenn ein Vakuum von 0,1 mm Hg erreicht wird. Der große Vorteil der Sublimation auf der Hostaphanfolie besteht nun darin, daß die einzelnen Fraktionen unverändert und quantitativ gewonnen werden können. Hierzu wird an einer beliebigen Stelle, möglichst etwas entfernt von den Sublimaten, das Glasrohr angeritzt und durchbrochen und die Folie dann herausgezogen.

Identifizierung der Sublimate

Für viele Zwecke genügt zur Identifizierung* der Substanzen die kristalloptische Untersuchung (u. a. *Eder* und *Haas*^{13, 21}). Diese ist für die forensische Toxikologie besonders geeignet, da sie praktisch ohne Substanzverluste durchzuführen ist und somit die kostbare Analysesubstanz für weitere Untersuchungen oder für die Vorlage bei Gericht erhalten bleibt²². Die kristalloptische Untersuchung wird durch Vakuumsublimation auf die Folie aus folgenden Gründen erleichtert:

Erstens werden unter den Bedingungen des verminderten Druckes meistens die gleichen stabilen Modifikationen einer Substanz erzielt, wobei die Kristallindividuen oft schöner ausgebildet sind als bei anderen Sublimationstechniken. Zweitens trägt die Feinstruktur der Hostaphanfolie, die im konoskopischen Bild der Gitterstruktur eines zweiachsigen Kristalles ähnelt, zur orientierten Aufwachsung der Sublimate und damit zur besseren Erkennung charakteristischer Merkmale bei (über orientierte Abscheidung artfremder Substanzen auf kristallinen Oberflächen vgl. *A. Neuhaus*²³).

* *Cheronis*⁷ hält für die Identifizierung einer organischen Substanz die Ermittlung zweier physikalischer Konstanten neben einer Farbreaktion für erforderlich.

Schmelzpunktsbestimmungen und weitere mikrochemische Identifizierungsmaßnahmen können mit Substanzproben aus den erhaltenen Fraktionen durchgeführt werden, ohne daß die Kontinuität der Folie und damit die räumliche Anordnung der Sublimationszonen zerstört werden muß.

Falls die Sublimate nicht sofort einer weiteren Verarbeitung unterzogen werden können, ist ihre Aufbewahrung in den meisten Fällen gut möglich. Durch Verschuß des Rohrendes kann man Dauerpräparate herstellen, wenn man davon absieht, daß einige Substanzen auch unter Luftabschluß ihren kristallinen Zustand wechseln. In manchen Fällen tritt bei der Sublimation eine intramolekulare Umlagerung ein: Zum

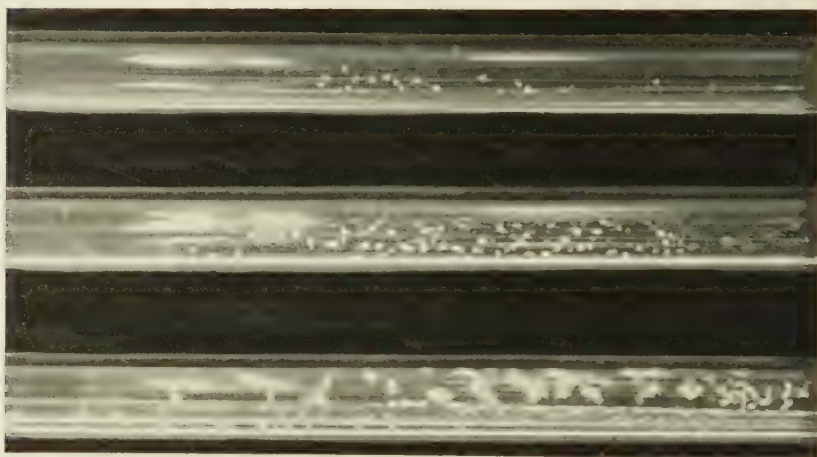


Abb. 5 Sublimation von je 1 mg Veronal + 1 mg Benzoesäure, 2 mg Veronal + 2 mg Benzoesäure und 10 mg Veronal + 10 mg Benzoesäure. Veronalfractionen (jeweils im unteren Drittel des Rohres)

Beispiel entsteht bei der Vakuumsublimation von Harnstoff neben der Zone der unveränderten Substanz eine solche von Ammoniumcyanat. Dieses bildet sich bei längerer Lagerung aber wieder in Harnstoff zurück. Sowohl der frisch sublimierte Harnstoff wie auch das frisch entstandene Ammoniumcyanat sind in ihrer Kristallform und in den kristalloptischen Eigenschaften sehr charakteristisch und gestatten ohne weiteres die Identifizierung.

Die Bestimmung kristalloptischer Daten kann auf der Folie, soweit es sich um Doppelbrechungsphänomene handelt, nicht durchgeführt werden, da die Folie selbst eine beträchtliche Doppelbrechung infolge ihrer kristalloiden Feinstruktur aufweist. Man muß die Substanz also für bestimmte Untersuchungen von der Folie entfernen. Zahlreiche Mikroreaktionen können jedoch direkt auf der Folie durchgeführt werden.

Unsere bisherigen Erfahrungen mit diesem Gerät erstrecken sich auf mehrere Gebiete der toxikologischen Analytik. Zunächst konnten wir feststellen, daß die Vakuumsublimation kleiner Substanzmengen gute Ausbeuten liefert. Abb. 5 und 6 zeigen die Sublimationszonen von Gemischen aus Veronal und Benzoesäure, wobei je 1, 2 und 10 mg der beiden Substanzen zusammen sublimiert wurden. Jede Substanz hat eine optimale Sublimationsdauer, wenn bestimmte Temperatur- und Druckverhältnisse gegeben sind. Tabelle 1 zeigt den Sublimationsverlauf von Veronal, Harnstoff, Nembutal und Inactin (bei den Barbituraten jeweils die freien Säuren) mit unserem Gerät.

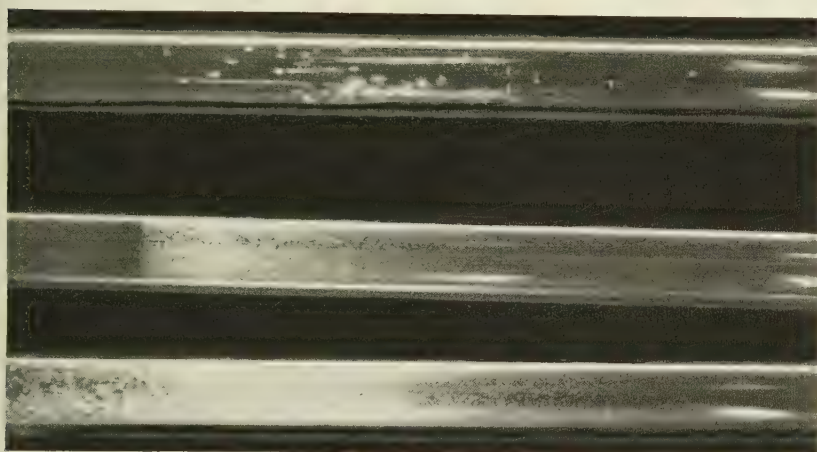


Abb. 6. Benzoesäurefraktionen (im oberen Drittel des Rohres)

Manche Substanzen, die verhältnismäßig langsam sublimieren, können bei Erhöhung der Temperatur oder bei Verminderung des Druckes schneller übergetrieben werden. Wenn die Spitztemperatur stets knapp unterhalb des Schmelzpunktes bleibt, sind im allgemeinen Zersetzungen nicht zu befürchten. Meistens genügen 10 bis 20 Minuten für die Erzielung einer guten Ausbeute.

In Tabelle 2 sind Ausbeuten zwischen 70 und 90% bei Ausgangsmengen von 10 bis 20 mg und bei einer Sublimationsdauer von durchschnittlich 5 bis 30 Minuten angeführt (*Janus*²⁴). Ausnahmen bildeten bei den in der Tabelle genannten 28 Substanzen 4-Acetaminoantipyrin und Coffein. Bei Versuchen zur Feststellung der Erfassungsgrenzen wurde für Gemische von Veronal und Ballaststoffen bei Verreibung der Substanz in Kochsalz eine Nachweisbarkeit von wenigen Mikrogramm gefunden. Je kleiner die Mengen sind, die der Sublimation unter-

Tabelle 1. Optimale Sublimationsdauer bei gegebenen Druck- und Temperaturverhältnissen für verschiedene Substanzen, sowie Ausbeute, Rückstand und Lage der Sublimats im Rohr

Sublimations- dauer Min.	Sublimations- temperatur °C	% Ausbeute	% Rückstand	Lage des Sublimats cm
<i>Veronal</i>				
5	180	50	31	2 bis 8
10	180	56	25	2 „ 8
15	180	82	—	2 „ 12
30	180	73	—	2 „ 12
60	180	42	—	2 „ 10
<i>Harnstoff</i>				
15	120	1	80	5 bis 6
30	120	5	70	5 „ 7
60	120	61	13	4,5 „ 8
90	120	61	10	4,5 „ 8
150	120	61	6	4,5 „ 8
<i>Nembutal</i>				
15	120	—	94	
30	120	8	85	9 bis 10
60	120	54,4	30,2	9 „ 12
120	120	75	—	9 „ 15
<i>Inactin</i>				
5	150	1	79	3 bis 6
15	150	40	48	3,5 „ 9
30	150	82	—	3,5 „ 10
60	150	75	—	3,5 „ 12

worfen werden, desto besser ist die Trennung der Fraktionen, desto schneller verläuft die Sublimation, aber desto größer sind die relativen Verluste, wenn die optimale Sublimationszeit überschritten wird.

Die Barbiturate lassen sich alle sublimieren und bilden bei dieser Arbeitsweise leichter Kristalle als sonst²⁵. Bei kleinen Substanzfraktionen ist eine Trennung chemisch nahe verwandter Barbiturate möglich, jedoch manchmal durch Mischkristallbildung erschwert²⁵. Die Modifikationen der Barbiturate, die bei der von uns angewendeten Vakuumsublimationstechnik entstehen, sind meistens gleichbleibend und eignen sich daher gut für die Röntgenfeinstrukturanalyse, die eine Unterscheidung zwischen den einzelnen Derivaten der Barbitursäure ermöglichen kann²⁶.

Orientiertes Aufwachsen der Kristalle wurde von uns nicht nur bei verschiedenen Barbituraten und Barbituratmischkristallen, sondern auch bei Harnstoffderivaten, wie dem Adalin und Bromural sowie zahlreichen anderen Substanzen beobachtet. Nach Adalinaufnahme wurde im Harn

Tabelle 2. Ausbeuten nach Sublimation im Temperaturgradienten. Bis zur angegebenen Temperatur wurde das Sublimationsgut in den Temperaturgradienten eingeführt

Substanz	Präparation	Sublimationstemperatur °C	Sublimationsdauer Min.	% Ausbeute
Veronal	reine Substanz	180	15	83,7
Stadadorm	„ „	150	10	87,5
Nembutal	freie Säure	120	120	75,0
Dial	reine Substanz	170	10	84,1
Noctal	„ „	170	10	82,3
Luminal	„ „	170	60	73,5
Prominal	„ „	170	5	76,4
Evipan	„ „	140	10	78,5
Eunareon	„ „	120	60	70,0
Pernocton	„ „	120	30	72,5
Phanodorm	„ „	160	10	70,3
Medomin	„ „	170	20	74,6
Dormovit	„ „	140	30	81,2
Secobarbital	freie Säure	120	10	72,2
Butabarbital	„ „	160	15	83,3
Inactin	„ „	155	10	87,6
Trapanal	„ „	150	10	87,5
Baytinal	„ „	180	5	86,1
Latibon	reine Substanz	180	30	82,5
Dibutil	„ „	180	30	72,0
Atosil	„ „	180	10	77,9
Megaphen	„ „	180	60	80,6
4-Aminoantipyrin ..	„ „	120	10	80,9
4-Hydroxyantipyrin	„ „	160	10	82,2
4-Acetaminoantipyrin	„ „	180	30	8,3 (Rückst. 83,3)
Optalidon	Tablette	180	10	82,8 (Rückst. 12,3)
Coffein	reine Substanz	200	10	16,6 (Rückst. 74,6)
Harnstoff	„ „	125	60	68,7 (Rückst. 15,4)

ein Abbauprodukt, α -Äthyl- α -hydroxybuttersäure, nachgewiesen²⁷, das im Vakuumsublimat leicht aufzufinden und kristalloptisch gut zu identifizieren ist, obwohl höchstens einige Prozent der aufgenommenen Adalinmenge in dieser Form zur Ausscheidung gelangen, während unverändertes Adalin im Harn nicht gefunden wird.

Harneigene Substanzen, z. B. Harnstoff, Hippursäure, Benzoesäure, sind im Vakuumsublimat nebeneinander gut zu erkennen. Hippursäure wird bei längerem Erhitzen teilweise in Benzoesäure und Glykokoll gespalten, so daß man nicht selten Hippursäure und Benzoesäure neben-

einander findet. Hier zeigt sich der Vorteil der Sublimationsbeobachtung: Da Hippursäure sehr langsam sublimiert, Benzoessäure hingegen sehr schnell, so ist beim Auftreten von Hippursäure *vor* der Benzoessäure der Schluß zu ziehen, daß zunächst nur Hippursäure vorhanden war und sich erst sekundär Benzoessäure gebildet hat.

Von anderer Seite wird das Gerät bereits mit Erfolg zur Substanztrennung angewendet. In der präparativen Chemie wurden die Syntheseprodukte einiger komplizierter organischer Verbindungen unter anderen von *Sacher*²⁸ untersucht. Hier war die Material- und Zeitersparnis der Methode von großem Nutzen. Auch im organisch-analytischen Praktikum hat sich die Methode wegen der Einfachheit und der Materialersparnis eingeführt*.

*Pietschmann*²⁹ hat Fremdstoffzusätze in Lebensmitteln auf die übliche Weise extraktiv abgetrennt und dann mit unserem Gerät untersucht. Er konnte folgende Substanzen gut nachweisen: Vanillin, Bourbonal, Cumarin, Piperonal, Benzoessäure, Salicylsäure, Saccharin, Nipagin A und M, Nipasol, Sorbinsäure, Dehydracetsäure. Dabei erwies sich bereits die Kristalltracht als so charakteristisch, daß zusammen mit der Schmelzpunkts- und Mischschmelzpunktsbestimmung die Identifizierung möglich war.

Das Gerät hat sich bei uns und in anderen mikrochemischen Laboratorien gut bewährt. So können vor allem stark verunreinigte Extrakte aus biologischem Material in *einem* Arbeitsgang getrennt und gereinigt werden, ohne daß nennenswerte Verluste zu befürchten sind. Auch ist es möglich, papierchromatographisch oder säulenchromatographisch getrennte und vorgereinigte Substanzen mit dieser Methode weiter zu reinigen und zu isolieren. Bei Papierchromatogrammen ist hierzu nur erforderlich das herausgeschnittene substanzhaltige Papierstück (wenn nötig nach Vorbehandlung mit Säure oder Lauge, um die sublimierende, nicht dissoziierte Form der zu erwartenden Substanz herzustellen) zusammenzurollen und in das Rohr einzubringen. Auch größere Mengen von Ballaststoffen stören nicht, wenn sie die Substanz nicht adsorbieren.

Über weitere eigene Erfahrungen mit dem Gerät in der forensisch-toxikologischen Analyse wird an anderer Stelle berichtet.

Für die Untersuchungen wurde eine Sach- und Personalbeihilfe der Deutschen Forschungsgemeinschaft gewährt. Hierfür sprechen wir unseren besten Dank aus.

Zusammenfassung

Das beschriebene Vakuumsublimationsgerät ermöglicht die kontinuierliche Fraktionierung mehrerer sublimierbarer Substanzen, die sich in ihrem Sublimationsverhalten unterscheiden, in einem Arbeitsgang.

* Wir verdanken die persönliche Mitteilung Herrn Prof. Dr. O. Dann, Direktor des Instituts für angewandte Chemie der Universität Erlangen.

Bei den gewählten Apparaturgrößen lassen sich Mengen von wenigen Mikrogramm bis etwa 30 mg verarbeiten.

Durch die Verwendung einer Kunststoff-Folie wird die Wiederengewinnung der Fraktionen aus dem Rohr ohne Veränderung des kristallinen Zustandes ermöglicht und die Identifizierung durch gleichmäßige und reproduzierbare Ausbildung stabiler Modifikationen, teilweise durch orientierte Aufwachsung erleichtert.

Summary

The described vacuum sublimation device makes possible in a single operation the continuous fractionation of several sublimable substances, which have different sublimation behaviors. With the size of the apparatus chosen here it is possible to deal with amounts from a few micrograms to around 30 mg. If a plastic material film is used, the recovery of the fractions from the tube is possible without alteration of the crystalline state, and the identification through uniform and reproducible development of stable modifications, as well as by oriented growth, is facilitated.

Résumé

Description d'un appareillage de sublimation sous vide, permettant le fractionnement continu, en une seule opération, de plusieurs substances sublimables, se différenciant par leurs propriétés de sublimation. Les dimensions choisies pour l'appareillage permettent de travailler sur des quantités variant de quelques microgrammes à environ 30 mg. L'emploi d'une feuille d'une matière plastique rend possible l'extraction des fractions du tube et leur récupération sans altération de leur état cristallin; il facilite également l'identification de ces fractions du fait de la formation régulière et reproductible de formes stables et, dans une certaine mesure, de l'orientation de leur croissance.

Literatur

¹ *H. Kaiser*, Beiträge zum toxikologischen Nachweis wichtiger Barbitursäurederivate unter besonderer Berücksichtigung der Mikrosublimation im Vakuum. Stuttgart: Verlag d. Südd. Apoth.-Ztg. 1932.

² *G. Matz*, Chem. Ing. Techn. **30**, 319 (1958).

³ *L. und A. Kofler*, Thermomikromethoden. 3. Aufl. Weinheim: Verlag Chemie. 1954.

⁴ *M. Behrens und A. Fischer*, Naturwiss. **41**, 13 (1954).

⁵ *R. Kempf*, Sublimieren, in: *Houben*, Die Methoden der organischen Chemie, 3. Aufl., Band I/1. Leipzig: Thieme. 1925. S. 663.

⁶ *H. Lieb und W. Schöniger*, Präparative Mikromethoden in der organischen Chemie, in: Handbuch der mikrochemischen Methoden, herausgegeben von *F. Hecht* und *M. K. Zacherl*, Band I, Teil 1. Wien: Springer-Verlag. 1954. S. 71.

⁷ *N. D. Cheronis*, Micro and Semimicro Methods, in: Technique of Organic Chemistry, Band VI, herausgegeben von *A. Weinberger*. New York: Interscience. 1954; *Mikrochim. Acta* [Wien] **1956** 925.

⁸ *W. Hammerschmidt*, Sublimation und kristalloptische Identifizierung als Mikromethoden zum Nachweis von Arzneimitteln und Giften. Med. Diss. Erlangen. 1958.

⁹ R. Jackel, Destillation und Sublimation im Fem- und Hochvakuum (einschließlich Gefriertrocknung), in: *Heubner-Wegl, Methoden der organischen Chemie*, Band I/1. Stuttgart: Thieme. 1958. S. 897.

¹⁰ E. Schunk und H. Roemer, zit. R. Kempf⁵.

¹¹ L. Kofler und H. Hübck, *Mikrochem.* **9**, 38 (1931).

¹² C. Nicolaysen, *Chem.-Ztg.* **25**, 1031 (1901); E. Philipp, *Mitt. Gebiete Lebensmittelunters. Hyg.* **3**, 41 (1912).

¹³ R. Eder, Diss. Zürich 1912; *Arch. Pharmaz.* **253**, 14 (1915).

¹⁴ L. Kofler und W. Dernbach, *Mikrochem.* **9**, 345 (1931).

¹⁵ L. Rosenthaler, *Qualitative Mikrochemie der Gifte und anderer gerichtlich-chemisch wichtiger Stoffe*. Berlin: Borntraeger. 1935.

¹⁶ F. Pregl, *Die quantitative organische Mikroanalyse*, 2. Aufl. Berlin: J. Springer. 1923.

¹⁷ A. O. Götter, Ch. J. Umberger und L. Goldstein, *Analyt. Chemistry* **22**, 600 (1950).

¹⁸ R. Flaschenträger, S. M. Abdel-Wahhab und G. Habib-Lob, *Mikrochim. Acta [Wien]* **1957**, 390.

¹⁹ F. A. Askew, R. B. Bourdillon, H. M. Bruce, R. G. C. Jenkins und T. A. Webster, *Proc. Roy. Soc. B* **107**, Nr. B 748 (1930).

²⁰ E. Pietschmann, Vortrag am 5. Juli 1957 in München vor der Fachgruppe Lebensmittelchemie und gerichtliche Chemie des Arbeitskreises Bayern in der Gesellschaft Deutscher Chemiker.

²¹ R. Eder und W. Haus, *Mikrochem., Eimich-Festschrift* **43** (1930).

²² G. Schmidt, *Zeiss-Mitteilungen* **1**, H. 3 (1957).

²³ A. Neuhaus, *Fortschr. Mineral. Kristallogr. Petrogr.* **29** 30, 136 (1950/51).

²⁴ A. Janus, *Vakuumsublimation mit dem Warmegradienten* von M. Behrens. Med. Diss. Erlangen. 1956.

²⁵ G. Schmidt, *Die toxikologische Harnanalyse zum Nachweis von Barbitursäure- und Harnstoffabkömmlingen*. Habil.-Schrift. Erlangen. 1957.

²⁶ T.-Y. Huang, *Acta Pharm. Int. (Copenhagen)* **2**, 43, 95 (1951); *Dansk Tidsskr. Farm. Till I* (1953); T.-Y. Huang und B. Jorslev, *Acta Pharmacol. Toxicol.* **7**, 227 (1951); W. Lindemann und G. Schmidt, unveröffentlicht.

²⁷ G. Schmidt, *Arch. exp. Path. Pharmacol.* **229**, 67 (1956).

²⁸ H. Sacher, *Synthese und Reaktionen von 1,4-Dimethyl-9,10-dimethen-9,10-dihydroanthracen sowie 4,9-Dimethylthiophenanthren*. Diss. Erlangen. 1957.

Aus dem Institut für gerichtliche Medizin der Universität Erlangen
(Direktor: Prof. Dr. Dr. E. WEINIG)

Papierchromatographische Vorprobe bei der toxikologischen Harnanalyse*

Von

Gg. SCHMIDT

Mit 1 Textabbildung

Wenn man die zahlreichen Publikationen zum papierchromatographischen Nachweis toxikologisch bedeutsamer organischer Substanzen überblickt, so verwirrt die Fülle unterschiedlicher Arbeitsvorschriften. Es sind uns beispielsweise etwa 30 Laufmittelgemische für die Trennung der Barbiturate bekannt, die unter anderem von folgenden Autoren stammen: ALGERI und WALKER, ALLGÉN, BURMESTER, DEININGER, GOLDSCHMIDT und WEHR, HÜBNER und PFEIL, RAVENTÓS, ROMANO, SEIFERT, WICKSTRÖM und SALVESEN.

Auch für die Trennung der Alkaloide sind mehrere Methoden angegeben worden, von denen bereits LEDERER 1953 MUNIER-MACHEBOEUF, FOSTER, MACDONALD und JONES, LUSSMANN, KIRCH und WEBSTER, CARLESS und WOODHEAD, WERLE und KOCH, ESPEN, CHRISTENSEN und JENSEN, REIMERS und GOTTLIEB, DENOEL, JAMINET, PHILIPPOT und DALLEMAGNE anführt.

Das Bemühen der Analytiker ging vor allem darauf hin, die Spezifität der Methoden zu erhöhen. Sie beschränkten sich daher vorwiegend auf den Nachweis einer Gruppe chemisch verwandter Substanzen, etwa auf Barbiturate, Opiate, Pyrazolonkörper oder Phenothiazinderivate. Aus der Vielzahl der Namen nenne ich nur ALGERI und WALKER, BÜCHI, u. SOLIVA, BURGER, DECKER, DEININGER, DIETZ u. SOEHRING, FREY, JATZKEWITZ, KAISER, MOHRSCULZ, PALMIERI, ROMANO, SEIFERT, VIDIC, WAGNER.

Die zunehmende Verbreitung des Arzneimittelmißbrauches und die ständig wachsende Zahl neuer Arzneimittel läßt die Anwendung von *Vorproben* in der toxikologischen Harnanalyse als zweckmäßig erscheinen.

Eine *brauchbare Vorprobe* muß vielseitig und materialsparend sein, sie muß sich für die Routineuntersuchung eignen und reproduzierbare

* Vortrag anlässlich der Tagung der Deutschen Gesellschaft für gerichtliche und soziale Medizin in Zürich, September 1958.

Ergebnisse liefern. Diese Voraussetzungen bietet die Papierchromatographie in nahezu idealer Weise. Man muß sich nur der Grenzen ihrer Spezifität bewußt sein. SCHEIBE hat mit Recht vor einer Überbewertung papierchromatographischer Ergebnisse im Sinne des spezifischen Nachweises gewarnt. Besondere Bedeutung haben bei der Harnanalyse die Umwandlungsprodukte (Metaboliten) der Gifte und die Ausscheidungsprodukte (Paarlinge mit Glucuronsäure oder Schwefelsäure). Diese Substanzen sind noch zu wenig bearbeitet; sie erhöhen die Anzahl der in einer Harnprobe zu erwartenden Substanzen. Als einfaches Beispiel sei der Befund nach Aufnahme von Pyramidon und Evipan nebeneinander angeführt: Vom Pyramidon kommen etwa 6 und vom Evipan 4 Ausscheidungsprodukte vorliegen. Nach Aufnahme von Kombinationspräparaten mit drei und mehr Komponenten können die Ausscheidungsverhältnisse noch komplizierter sein.

Jede Neuerung auf dem noch in der Entwicklung begriffenen Gebiet der papierchromatographischen Analyse ist zu begrüßen. Will man aber über Jahre hinweg vergleichbare Ergebnisse erhalten, so müssen stets gleichbleibende Untersuchungsbedingungen gewählt werden. Wir haben deshalb in dieser speziellen Hinsicht bewußt auf die Einführung neuer Gemische verzichtet und uns auf zwei Standardgemische beschränkt, nämlich das von ALGERI und WALKER 1952 für Barbiturate angegebene und das von JATZKEWITZ 1953 für sog. basische Suchtmittel verwendete.

Hierzu seien die methodischen Daten kurz angegeben.

Aufsteigende eindimensionale Papierchromatographie:

I. *Alkalisches Gemisch nach ALGERI und WALKER 1952:* n-Butanol gesättigt mit 5 n Ammoniak.

II. *Saures Gemisch nach JATZKEWITZ 1953:* n-Butanol: 15% Ameisensäure: Wasser (12:1:7 Volumteile).

Es wird die Oberphase verwendet, die Unterphase nicht abgetrennt. Schleicher & Schüll-Papier Nr. 2043b Mgl. Temperatur 18–22°. Aufsteigende Entwicklung. Laufstrecke im alkalischen Gemisch 22 cm und im sauren Gemisch 25 cm in jeweils 12 Std (über Nacht).

Wenn diese Laufmittelgemische ursprünglich auch nur für jeweils 8–10 Substanzen geprüft worden sind, so haben sie gerade bei der Harnanalyse eine viel größere Anwendungsbreite, besonders bei geeigneter Auswahl von Reagentien zur Sichtbarmachung. Der Untersuchungsgang wird durch Abb. 1 veranschaulicht:

Ähnlich der fraktionierenden Ausschüttelung nach STAS-OTTO gehen wir so vor, daß zuerst 10 ml Harn nach JATZKEWITZ sodaalkalisch mit Amylacetat und anschließend weinsauer mit Essigester extrahiert werden. Dem Amylacetat-Extrakt werden mit einer geringen Menge (0,2 ml) Ameisensäure die basischen Substanzen und dem Essigester-Extrakt mit 0,2 ml Ammoniaklösung die sauren Substanzen nach Schütteln und Zentrifugieren entzogen. Beide wäßrigen Endlösungen werden mit je $\frac{1}{10}$ und $\frac{1}{10}$ der Menge auf je zwei Flecken und zwei Papiere aufgetragen, wonach ein Papier in das Jatzkewitz-Gemisch, das andere in das Algeri-Walker-Gemisch eingetaucht wird.

Nach dieser Extraktionstechnik können folgende Substanzgruppen erfaßt werden:

Alkaloide, insbesondere Opium-, China-, Strychnos- und Mutterkornalkaloide, sowie Nicotin, *Analgetica* der Polamidon- und Morphinanreihe, *Lokalanaesthetica*, *Phenothiazine*, Acridinderivate, *Weckamine* und *Stimulantien*.

Diese Gruppen erscheinen, soweit sie im Harn zur Ausscheidung gelangen, im Jatzkewitz-Extrakt.

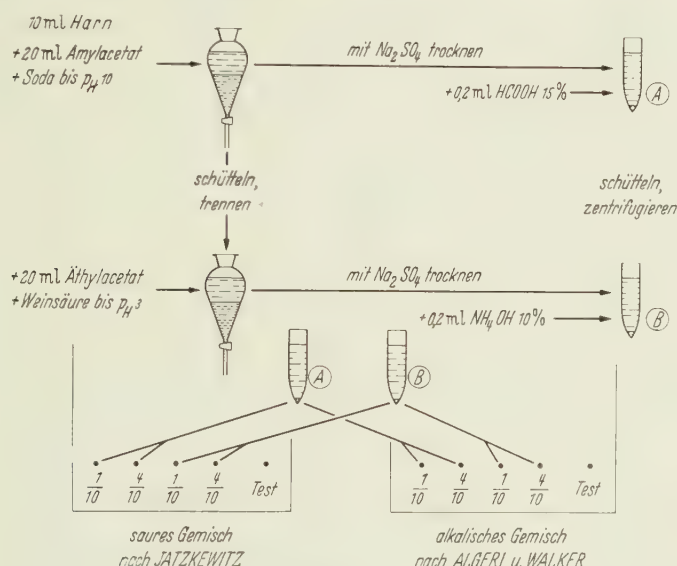


Abb. 1. Extraktionstechnik und Verteilung der Endlösungen auf die Startflecke

Schlaf- und Narkosemittel der Barbitursäure- und Thiobarbitursäurereihe, außerdem Persedon, Noludar, Doriden, Valamin. *Antipyretica*, *Hydantoinderivate*, *Sulfonamide*, *Bakteriostatica*.

Diese Gruppen erscheinen in dem bei *saurer Reaktion* gewonnenen Extrakt. Außerdem sind eine große Anzahl von Harnausscheidungsprodukten nachweisbar und schließlich körpereigene Substanzen, deren Unterscheidung von Fremdstoffen notwendig ist. Einzelheiten können aus der Tabelle entnommen werden.

Von den bekannten Reagentien zur Sichtbarmachung papierchromatographisch getrennter Substanzflecken haben sich für unsere Zwecke besonders bewährt: *Ultraviolettes Licht* verschiedener Wellenlänge für fluoreszierende und absorbierende Substanzen.

Wismutsubnitrat und *Kaliumjodid* in *Eisessig* (Munier-Macheboeufs Reagens) für Alkaloide und andere Stickstoffbasen.

Diazotierte Sulfanilsäure in *alkalischer Lösung* oder *Eisen-III-chlorid* für Substanzen mit phenolischer Hydroxylgruppe.

Tabelle

Substanz	R _F -Wert		UV-Licht	Hg ₂ (NO ₃) ₂	Munier	Dialo	FeCl ₃	Ehrlich	KMnO ₄
	I	II							
Synthetische und halbsynthetische alkalische Substanzen der Polamid-, Opiat- und Morphinreihe:									
Cliradon	0,90	0,59	a	—	z	rbr	—	—	g
Dolantin	0,90	0,65	a	—	z	—	—	—	g
Polamidon	0,90	0,80	a	—	z	k, dann g	—	—	g
Unbekannte Substanz (aus Polamidon)	0,90	0,70			z				
Ticarda	0,80	0,70	a	—	z	—	—	—	
Suprifen (aus Ticarda)	0,70	0,37							
Acedicon	0,85	0,34 0,51	a	—	z	g k	—	—	g sg
Codein	0,86	0,19 0,32	a	—	z	—	—	—	g
Morphin (aus Codein, s. dort)									
Dicodid	0,90	0,37	a	—	z	k	a. Start o	—	g
Dilaudid	0,84	0,26	a	—	z	k	a. Start o	—	g
Dionin	0,84	0,42	a	—	z	k	—	—	g
Morphin (aus Dionin, s. dort)									
Eukodal	0,83	0,34	a	—	z	br	—	—	g
Citarin	0,90	0,71			z	k, abbl.	—	—	g
Dromoran	0,91	0,60	a	—	z	k	—	—	g
Alkaloide:									
Apomorphin	0,87	0,39	a	gr	rgr	gr	vgr	v	bl

	0,83	0,31	a	—	z	k	—	—	—	g
Morphin	0,83	0,31	gr bl Fl	—	z	—	—	—	—	g
Narcotin	0,84	0,44	rbr Fl	—	z	so	—	—	—	g
Papaverin	0,85	0,69	sbl Fl	—	z	—	so	—	—	o/k
Spartein	0,84	0,44	a	—	z	—	—	—	—	—
Atropin	0,91	0,45	a	—	z	—	—	—	—	—
Homatropin	0,89	0,39	a	—	z	—	a, Start o	—	—	—
Hyoscyamin	0,89	0,47	a	—	z	I: rbr; II: hr	—	—	—	—
Scopolamin	0,84	0,35	a	—	z	—	—	—	—	—
Brucin	0,83	0,34	a	—	z	g	—	s k	—	—
Strychnin	0,88	0,46	a	—	z	hbr	a, Start o	—	—	g
Chinidin	0,90	0,65	bl Fl	—	z	gbr	—	—	—	g
Chinin	0,93	0,71	bl Fl	—	z	gbr	—	—	—	g
Gynergen	0,86	0,76	bl Fl	—	sz	—	—	v	v	g
Hydergin	0,95	0,34	I: gr II: dbl	sg	sz	—	—	—	—	g
Methergin	0,85	0,50	bl Fl	—	sz	—	—	v	v	g
Partergin	0,80	0,49	bl Fl	sg	sz	—	—	v	v	g
Secacornin	0,90	0,38	hbr Fl	sbr	rbr	rbr	sbr	v	v	g
Aconitin	0,90	0,77	a	—	o	I: —; II: g	—	—	—	g
Colchicin	0,83	0,85	ogr Fl	—	z	I: —; II: g	v	—	—	g
Nicotin	0,89	0,21	a	—	z	—	—	—	—	sv
Pilocarpin	0,82	0,29	—	—	o	—	—	—	—	—
Verschiedenes:										
Curarin	0,35	0,12	a	—	z	I: hbr II: r	—	—	—	g

Tabelle (Fortsetzung)

Substanz	R _f -Wert		UV-Licht	Hg ₂ (NO ₃) ₂	Munier	Diazo	FeCl ₃	Ehrlich	KMnO ₄
	I	II							
E 605	0,90	0,90	a	—	z	g	—	g	g
Paranitrophenol (aus E 605)	0,50	0,90	a	m. Alkali g	—	—	—	—	—
Fusariol	0	0,03	a	—	—	—	—	—	—
Plasmochin	0,32 0,94	0,7 0,92	g/gr	sg	—	r	g	go	g
Prostigmin	0,08	0,13	sbl	—	10,8 : g 11 0,13 : g	—	—	—	—
	0,26	0,37	sbl	—	10,26 : z 11 0,37 : r	—	—	—	sv
k-Strophanthin	0,18	0,13 0,74	dbl	—	0, z	—	—	0,74 sg	g
Zephirol	0,65	0,70	a	—	z	rv	—	go	sg
<i>Lokalanästhetica:</i>									
Anaesthesin	0,90	0,90	a	—	z	—	g	go	—
Chlorprocain	0,90	—	—	—	z	—	—	—	—
4-Chlor-p-aminobenzoesäure (aus Chlorprocain) ¹	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Cocain	0,90	0,55	a	—	o	hbr	—	—	—
Larocain	0,94	0,90	a	—	z	g	—	go	g
Novocain	0,98	0,50	a	—	z	so	—	o	g
p-Aminobenzoesäure (aus Novocain)	0,13	0,87	dbl Fl	(k)	o	g	—	—	sg
Novocainamid	0,85	0,26	a	—	z	rbr	g	go	g

¹ nicht untersucht.

Tabelle (Fortsetzung)

Substanz	R _f -Wert		UV-Licht	Hg ₂ (NO ₃) ₂	Munier	Dlazo	FeCl ₃	Ehrlich	KMnO ₄
	I	II							
Theophyllin	0,27	0,64	a	—	—	g	—	—	—
Xanthin	0,94	0,18	a	—	z	—	—	—	—
<i>Phenothiazinderivate:</i>									
Atosil	0,90	0,75	s g	—	z	—	—	—	g
Unbekannte Substanz (aus Atosil)	0,90	0,50			z		sv	kv	g
Dibutil	0,98	0,77	s a	s br	z		k	k	g
Latibon	0,96	0,69	a bl Fl		z		gräubl	v	bl g
Megaphen	0,90	0,75	a	kbr	z	g			
Unbekannte Substanz (aus Megaphen)	0,20	0,90	a			o			
Weitere unbekannte Substanzen aus Megaphen)	0,80	0,50—0,80			bro				
Decentan	0,81	0,60	a bl Fl	k	z	0,81: o 0,60: br	v	sv	rv
Unbekannte Substanz (aus Decentan)	0,80	0,80	a		I: z; II: w	I: (r); II: gbr			
Pacatal	0,90	0,77	bl Fl	—	z	—	k	—	g
Padisal	0,50	0,63	hbl Fl		z	—	sk	—	g
Verophen	0,91	0,68	bl Fl	k	z		rbr	k	rv
<i>Aminosäuren:</i>									
dl-Alanin	0,04	—	s bl Fl	—	Studium v	g	sv	—	—

	0,17	—	hbl Fl	—	Ninhydrin v	g	s v		g/v
Asparaginsäure	0,17	—	hbl Fl	—	—	—	—	—	—
Cystin	0	0,18	s bl Fl	—	v	g	—	—	—
Glykocoll	0	—	hbl Fl	—	v	g	br	—	—
Leucin	0,20	0,40	dbl Fl	—	v	g	—	—	—
dl-Tryptophan	0,12	0,20	hbl Fl	br	v	g	o	—	—
Tyrosin	0,05	—	—	—	v	r	—	—	—
<i>Körpereigene Substanzen:</i>									
Adrenalin	0,17	0,11	I: gr Fl II: a	br	Munier —	g	r	—	rv
Acetylcholin	0,06	0,06	hbl Fl	—	vr	s g	g	—	—
Aconitsäure	0	0,70	a	schw	—	o	—	—	—
Ameisensäure	0,90	0	—	—	—	—	—	—	—
p-Aminobenzoesäure	0,07	0,85	I: a II: dbl	s g	o	g	k	—	g
Arterenol	0,10—0,50	0,10—0,20	ggr Fl	br	—	r/o	br gr	—	g/v
Ascorbinsäure	0,03	0,25	a	schw	(k)	—	s g	—	g
Benzoesäure	0,37	0,87	dbl Fl	—	—	s g	—	—	—
Bernsteinsäure	0	0,65	—	schw	—	o	—	—	—
Brenztraubensäure	0,15 0,80	0,18 0,88	a/bl	schw	0,80: o	—	0,80: blr	—	—
Cholin	0,04	0,05	hbl	s br	vr	s g	g	—	g
Essigsäure	0,09	0,86	bl Fl	schw	—	—	—	—	—
Gallensäuren und -farbstoffe	0,10; 0,25	—	—	—	—	—	—	—	—
Harnstoff	0,25	0,25	a	—	—	—	—	g	—
Hippursäure	0,19	0,80	a	—	—	g	—	—	—

Tabelle (Fortsetzung)

Substanz	R _f -Wert		UV-Licht	Hg ₂ (NO ₃) ₂	Munier	Diazö	FeCl ₃	Ehrlich	KMnO ₄
	I	II							
Indolyl-3-essigsäure	0,19—0,33	0,38	a	schw	Nindylidin rbr Munier grau	o	r	blr	rbr
Malonsäure	0	0,62	hbl Fl	schw	s g	o			
Mesaconsäure	0,44	0,88	a	—		o		k	
Milchsäure	0,13	0	hbl Fl	schw			go		
Nicotinsäureamid	0,90	0,55	a		0,90; brg		g	0,90; g	
m-Oxybenzoesäure	0,32	0,91	a			o	rbr		s g
p-Oxybenzoesäure	0,25	0,92	a			o	br		s g
Phenacetursäure ¹									
Porphyrine	0,10 0,11	0,87 0,36	r Fl	schwbr	rbr	br		br	gtbr
Stearinsäure	—	0,90	hbl Fe						
Thiamin	0,68	0,58	bl Fl		z				
Citronensäure	0	0,44	hbl Fl	schw			g		
<i>Acridinderivate:</i>									
Atebrin	0,90	0,41	gr Fl		z	g	g		g
Cignolin	0,58	0,90	a		z	k			
Rivanol	0,55	0,57 0,80	blgr Fl	—	o	o	v	o	g
Trypaflavin	0,25	0,80	blgr Fl	og	z	brk	v	vr	go

¹ nicht untersucht. Nach den Ergebnissen von Fewster u. Hall sind in Lösungsmittelgemisch I sehr niedrige R_f-Werte um 0,1 bis 0,3 zu erwarten.

amphiprotica.

Acetamid	0,85	0,87	a	—	—	—	g
Antipyrin	0,84	0,82	a	schw	z	hbr	r
4—Aminoantipyrin (aus Antipyrin)	0,64—0,98	0,45—0,77	brgr Fl		rbr	r	g
Aspirin	0,47	0,77	a	—	z	v	—
Salicylsäure frei (aus Aspirin) .	0,38	0,86				v	—
Salicylsäure gebunden (aus Aspirin)	0,15	0,60—0,70				v	—
Atophan	0,55	0,85	a	—	z	—	—
Butazolidin	0,95	0,95	a	—	o	s g	—
6 unbekannte Substanzen (aus Butazolidin) ¹							g
Novalgin	0,10—0,23	0,65	a	schw	z	kv	g
Phenacetin	0,84	0,90	a	—	z	—	—
Paraaminophenol (aus Phen- acetin)	0,84	0,90	a		z	—	g
Pyramidon	0,88	0,46—0,60	a	—	z	rv	grbl
Rubazonsäure (aus Pyramidon, wahrscheinlich erst beim Stehen an der Luft gebildet)	0,90	0,76	a		hbr	z	
4-Acetaminoantipyrin (aus Pyramidon)	0,62—0,80	0,68—0,82	a		rbr	brv	g
4-Aminoantipyrin (aus Pyramidon)	0,64—0,98	0,45—0,77	brgr Fl		rbr	r	g

¹ RAMSAUER.

Tabelle (Fortsetzung)

Substanz	R _f -Wert		UV-Licht	Hg ₂ (NO ₃) ₂	Munier	Diazo	FeCl ₃	Ehrlich	KMnO ₄
	I	II							
Antipyrilbarnstoff (aus Pyramidon) ¹									
4-Oxyantipyrin gebunden (aus Pyramidon)	0,69	0,77	0,80—0,95		rbr		v	grbl	
Isonicotinsäurehydrazid	0,60; 0,82	0,60	a		z	g 0,82; rbr			
p-Aminosäure	0,05	0,81	a		—	db	v		
<i>Barbiturate:</i>									
Alphenal ¹	6								
Amytal	0,75	0,95	a	schw					
Äthyl-3-hydroxy-isoamyl- barbitursäure (aus Amytal) .	0,30	0,80	a	schw					
5-Amyl-5-allylbarbitursäure .	0,58	0,91	a	schw					
Butabarbital	0,72	0,95	a	schw					
Butabarbital-carboxylsäure (aus Butabarbital) ¹									
n-Butylallylbarbitursäure . . .	0,72	0,92	a	schw					
Cyclopal	0,66	0,87	a	schw					
Delvinal ²									
Dial	0,59	0,90	a	schw	—	g			

¹ nicht untersucht.

Tabelle (Fortsetzung)

Substanz	R _f -Wert		UV-Licht	Hg.(NO ₃) ₂	Münier	Diaz	FeCl ₃	Ehrlich	KMnO ₄
	I	II							
Phenyläthyllessigsäure (aus Luminol)	0,37—0,65		a	—	—				
Phenyläthylmalonsäure (aus Luminol) ¹									
Phenyläthylmalonsäure (aus Luminol) ¹									
Medomin	0,72	0,95	a	schw					
3-Keto-Medomin (aus Medomin)	0,25	0,80	a	schw					
Narcoumal ²									
Nembutal	0,73	0,94	a	schw					
5-Äthyl-5-(3-hydroxy-1-methylbutyl)barbitursäure (aus Nembutal) ¹									
Neonal.	0,69								
5-Äthyl-5-(3-hydroxybutyl)- barbitursäure (aus Neonal) ¹									
Noctal	0,57	0,90	a	schw					
5,5-Acetonylisopropylbarbitur- säure (aus Noctal)	0,40	0,70—0,90	a	schw					
Numal.	0,64	0,93	a	schw					
Unbekannte Substanz (aus Numal)	0,18 0,37	0,80		br					

¹ nicht untersucht.² nicht untersucht, zu erwarten ist 0,70.

Tabelle (Fortsetzung)

Substanz	R _g -Wert		UV-Licht	Hg ₂ (NO ₃) ₂	Munier	Diazo	FeCl ₃	Ehrlich	KMnO ₄
	I	II							
Inactin	0,80	0,95	a	schw	—	—	s rbr		g
5 unbekannte Substanzen (aus Inactin) ¹									
Butabarbital (aus Inactin, s. dort)									
Kemithal ²									
Unbekannte Substanz (aus Kemital) ² (CARRINGTON u. RAVENTÓS)									
Surital ²									
Thiobarbital ²									
Veronal (aus Thiobarbital, s. dort)									
Thiogenal	0,80	0,95	a	schw					
Thiogenalsulfoxyd (aus Thiogenal)	0,55	0,86	a	schw			rbr		
5 unbekannte Substanzen (aus Thiogenal) ¹									
Thionarcon ²									
Thiophenolbarbital ²									
Luminal (aus Thiopheno- barbital, s. dort)									

¹ nicht untersucht (FREY).² nicht untersucht, zu erwarten ist 0,80.

Trapanal	0,82	0,95	a	schw	—	—	—	—	—	—
Trapanalcarboxylsäure (aus Trapanal)	0,21	0,85	a	schw	—	—	—	—	—	—
Mehrere unbekannte Substanzen (aus Trapanal) ¹										
<i>Hydantoinderivate:</i>										
Diphenylhydantoin	0,78	0,90	a	s schw	—	—	—	—	—	—
Hydroxydiphenylhydantoin (aus Diphenylhydantoin) ² .	0,62	0,80	a	—	—	o	—	—	—	—
Mesantoin	0,88	0,98	a	schw	—	—	—	—	—	—
Nirvanol	0,90	0,90	a	schw	—	—	—	—	—	—
<i>Weitere Schlafmittel:</i>										
Abasin	0,82	0,88	a	(schw)	—	—	—	—	—	—
Adalin	0,90	0,90	a	(schw)	—	—	—	—	—	—
α-Äthyl-α-oxybuttersäure (aus Adalin)	0,10	0,90	a	—	—	—	—	—	—	—
Bromural	0,90	0,87	a	(schw)	—	—	—	—	—	—
Doriden	0,92	0,94	a	schw	r	r	—	—	—	—
Eukraton (Analeptikum) . .	0,84	0,84	a	schw	z	—	—	—	—	—
α-Phenylglutarimid (aus Doriden)	0,68	0,76	a	schw	g	—	—	—	—	—
Noludar	0,90	0,88	a	—	g	—	—	—	—	—
4,6-Dioxo-5,5-diäthyltetra- hydronicotinsäure (aus Nodular) ³	0,30	0,88	a	schw	—	g	—	—	g	g

¹ nicht untersucht (FREY).

² Die synthetisch gewonnene Vergleichssubstanz verdanken wir dem freundlichen Entgegenkommen von Prof. T. C. BUTLER.

³ Die synthetisch gewonnene Vergleichssubstanz verdanken wir dem freundlichen Entgegenkommen der Hoffmann-La Roche A.G.

Tabelle (Fortsetzung)

Substanz	R _f -Wert		UV-Licht	Hg ₂ (NO ₃) ₂	Munier	Diazo	FeCl ₃	Ehrlich	KMnO ₄
	I	II							
2,4-Dioxo-3,3-diäthyltetrahydro- pyridin (aus Nodular) ¹	0,85	0,85	a	—	—	s g	g	—	g
2,4-Dioxo-3,3-diäthyl-5- methyltetrahydro- pyridin (aus Nodular) ¹	0,93	0,93	a	—	—	s g	—	—	g
Persedon	0,85	0,90	bl Fl in Alkali	schw	—	—	—	—	g
Valamin	0,85	0,85	—	schw	z	g	—	r	g
Hydroxyvalamin (aus Valamin) ²	0,74	0,85	hbl Fl	schw	—	—	grau-bl	r	—
<i>Sulfonamide:</i>									
Albucid	0,05	0,10	a	schw	—	—	g	go	g
Amindan	0,40	0,53	a	s g	—	s g	g	g	s g
Bacidal	0,20	0,55	a	schw	- bis gr	s go	s g	g	g
Cibazol	0,19	0,65	a	g	—	gbr	g	go	—
Diamox	0,08	0,76	a	schw	—	—	—	—	—
Eleudron	0,17	0,71	a	schw	(z)	gbr	—	go	g
Gantrisin	0,26	0,90	a	schw	—	s g	g	g	g
Gombardol	0,52	0,53	a	schw	—	s g	—	go	g
Marfanil	0,35	0,84	a	schw	—	—	—	—	—
Supronal	0,23	0,75	a	schw	—	g	g	g	g
Taleudron	0,10	0,79	a	schw	—	—	—	s g	g

¹ Die synthetisch gewonnene Vergleichssubstanz verdanken wir dem freundlichen Entgegenkommen der Hoffmann-La Roche A.G.² PREUSS.

Abkürzungen:

a = Absorption
 abl = abblässend
 bl = blau
 br = braun
 d = dunkel
 Fl = Fluoreszenz

g = gelb
 gr = grün
 h = hell
 k = karmin
 o = orange
 r = rot

s = schwach
 schw = schwarz
 st = stark
 v = violett
 z = ziegelrot
 — = farblos oder negativ

I = Gemisch nach ALGERI u. WALKER
 (s. Text)
 II = Gemisch nach JATZKEWITZ
 (s. Text)

Die schräg gedruckten R_f -Werte stammen von Harnausscheidungs-substanzen, die übrigen von Reinsubstanzen oder Harnzusatz-
 versuchen. Bei den Substanzen, deren R_f -Werte nicht schräg gedruckt sind, ist die Nachweisbarkeit in der Harnausscheidung von
 uns nicht nachgewiesen, jedoch teilweise aus der Literatur bekannt.

Die Harnausscheidungsprodukte einer Substanz werden unter der jeweiligen Muttersubstanz gebracht.

Die Extrahierbarkeit in sauren oder alkalischen Milieu ergibt sich für die einzelnen Substanzgruppen aus dem Text.

Spaltprodukte der Barbiturate mit Öffnung des Barbitursäurerings wurden lediglich für Luminal angegeben. Bei den anderen
 Barbituraten besteht die Möglichkeit einer gleichartigen, wahrscheinlich postmortalen Spaltung.

Manche organische Säuren sind nur mit Säureindikatoren nachzuweisen, z. B. mit Bromkresolpurpur.

Bei EHRLICH'S Reagens treten die Farbreaktionen häufig sehr langsam ein, so daß eine Farbentstehung durch Zersetzung der Sub-
 stanzen nahelegt (z. B. bei den Pyrazolonderivaten).

Quecksilber-I-nitrat für
 Barbiturate und reduzierende
 Substanzen.

p-Dimethylaminobenzalde-
 hyd in salzsaurer Lösung (Ehr-
 lichs Reagens) für Pyrazolon-
 derivate und verschiedene
 körpereigene Substanzen.

Kaliumpermanganat für
 Substanzen mit ungesättigten
 Bindungen.

Auf dem gleichen Papier
 können nacheinander folgende
 Kombinationen von Reagen-
 tien angewendet werden, wo-
 durch die Beweiskraft erhöht
 wird:

- A. 1. Ultraviolette Licht
2. Muniers Reagens
3. Diazotierte Sulfanil-
 säure oder Ehrlichs
 Reagens
- B. 1. Ultraviolette Licht
2. Quecksilber-I-nitrat
3. Ehrlichs Reagens
- C. 1. Ultraviolette Licht
2. Quecksilber-I-nitrat
3. Kaliumpermanganat

Auch das Herauslösen von
 Flecken und die nachfolgende
 spektrophotometrische Mes-
 sung der Lichtabsorption oder
 die direkte Vakuumsublima-
 tion der Papierstücke haben
 sich für die Identifizierung
 bewährt. Die direkte Absorp-
 tions- und Reflexionsmessung,
 die bisher an der unzureichen-
 den Empfindlichkeit der zu-
 gänglichen Apparatur schei-
 terte, kann nach neuen Unter-
 suchungen vielleicht bald eine
 weitere Vereinfachung und
 Verbesserung des spezifischen
 Substanznachweises bringen.
 Auf die Veröffentlichung von
 KORTE über Messungen mit
 einer Reflexionskugel sei ver-
 wiesen.

Häufig gelingt bereits
 auf Grund der papierchro-

matographischen Auswertung mehrerer Charakteristica die Identifizierung der aufgenommenen Substanzen. Oft geben die für bestimmte Ausscheidungsprodukte und Reinsubstanzen typischen *Fleckenkombinationen* Hinweise auf die aufgenommenen Substanzen. Wir haben bei Schlafmitteln ähnliche Ergebnisse wie MOHRSCHULZ erzielt, der sich besonders der Erfassung von Ausscheidungssubstanzen gewidmet hat.

Wenn die Identifizierung nach der Anwendung unserer Vorprobe nicht gesichert erscheint, so können nunmehr gezielte Untersuchungen angeschlossen werden, etwa bei schwer trennbaren Gemischen die präparative Chromatographie oder andere geeignete Isolierungs- und Reinigungsmethoden.

Die Anwendung der beschriebenen *Vorprobe* in vielen Fällen der Harnuntersuchung, sei es bei klinischem Vergiftungsverdacht, zur Süchtigenkontrolle oder zur Prüfung der Ausscheidung von Arzneisubstanzen, hat sich bei uns in den letzten Jahren gut bewährt. Wenn man an einer Standardmethode festhält, hat man die Möglichkeit, die Ergebnisse zu vergleichen und kann mit zunehmender Erfahrung sozusagen auf einen Blick die Veränderungen in einer Harnprobe erfassen. Diese Harndiagnostik erstreckt sich nicht nur auf den Nachweis von Giftsubstanzen und ihren Ausscheidungsprodukten, sondern auch auf die Erkennung normaler und pathologischer körpereigener Substanzen; z. B. kann man bei Süchtigen eine ganz andere Verteilung der normalen organischen Säuren im Harn, besonders der Benzoe-, Hippur- und Phenacetursäure als beim Nichtsüchtigen finden, oder man kann den Alterungsgrad einer Harnprobe gut abschätzen an der Harnstoffmenge, die die Flüssigkeit noch enthält.

Die von uns verwendete papierchromatographische Vorprobe gibt aus kleinen Materialmengen einen guten *Überblick über die im Harn enthaltenen Substanzen*, der sonst erst beim Stas-Otto-Untersuchungsgang zu erreichen wäre. Verlustreiche Reinigungsmaßnahmen und zeitraubende detaillierte Arbeitsgänge können damit zunächst vermieden werden. Darin sehen wir den besonderen Vorteil der papierchromatographischen Technik bei der Anwendung dieser Vorprobe auf forensischem Gebiet.

Summary

For the purpose of toxicologic analysis of urine, especially in forensic cases, it is desirable to have a simple and extensive method for tracing the possibly present poisons, which are mostly unknown. We use a paperchromatographic method with two solvent systems: An acid mixture (according to JATZKEWITZ) and a basic mixture (according to ALGERI and WALKER). Reagents which can detect very small amounts of different poisons, respectively groups, are used to prove the substances which are in the material. Frequently one can identify the poison at

once, but if not, the scientist now can employ approved methods for the individual substance. In this way time and material are saved. This method has been tested in clinical and forensic cases when there was suspicion of poisoning, and also in the control of disease and in experimental studies.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danken wir für verständnisvolle Unterstützung und zahlreichen pharmazeutischen Firmen für die Überlassung von Handelspräparaten und Reinsubstanzen.

Literatur

- ALGERI, E. J., u. J. T. WALKER: Paper chromatography for identification of the common barbiturates. *Amer. J. clin. Path.* **22**, 37 (1952). — ALLGÉN, L.-G.: Separation and identification of barbiturates in biological material by paper chromatography. *Scand. J. clin. Lab. Invest.* **9**, 71—79 (1957). — BÜCHI, J., u. M. SOLIVA: Die Anwendung der Papierchromatographie in der qualitativen Arzneimittel-Analyse. 1.—4. Mitt. *Pharm. Acta Helv.* **30**, 154—174, 195—210, 265—276, 297—320 (1955). — BURGER, A.: *Medicinal chemistry*, Vol. I. New York: Interscience Publ., Inc. 1951. — BURMESTER, K.: Eine papierchromatographische Methode zum Nachweis kleinster Barbituratmengen im Urin mit weitgehender Unterscheidungsmöglichkeit der einzelnen Barbitursäureschlafmittel. Diss. Hamburg 1955. — CARLESS, J. E., u. H. B. WOODHEAD: Zit. LEDERER u. LEDERER. — CARRINGTON, A. G., and G. RAVENTÓS: Kemithal: A new intravenous anesthetic. *Brit. J. Pharmacol.* **1**, 215 (1946). — CHRISTENSEN, G. L., u. B. K. JENSEN: Zit. LEDERER u. LEDERER. — DECKER, P.: Papierchromatographie. *Pharmazie* **8**, 371—378, 477—484 (1953). — Papierchromatographische Untersuchung von Farbreaktionen. I. Mitt. über Harninhaltsstoffe. *Z. ges. inn. Med.* **9**, 966 (1954). — DEININGER, R.: Papierchromatographischer Nachweis der Barbitursäuren. *Arzneimittel-Forsch.* **5**, 472—475 (1955). — DENOEL, A., F. JAMINET, E. PHILIPPOT u. M. J. DALLEMAGNE: Zit. LEDERER u. LEDERER. — DIETZ, W., u. K. SOEHRING: Experimentelle Beiträge zum Nachweis der Thiobarbitursäuren aus dem Harn mit Hilfe der Papierchromatographie. *Arch. Pharm. (Weinheim)* **290** (62), 80—97 (1957). — ESPEN, J. VAN: Zit. LEDERER u. LEDERER. — FEWSTER, M. E., and D. A. HALL: Application of buffered solvent systems to the detection of aromatic acids by paper partition chromatography. *Nature (Lond.)* **168**, 78—79 (1951). — FOSTER, G. E., J. MACDONALD u. T. S. G. JONES: Zit. LEDERER u. LEDERER. — FREY, H.-H.: Untersuchungen zum Stoffwechsel einiger intravenöser Kurz-narkotika. *Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmacol.* **232**, 333—335 (1957/58). — Vergleichende Untersuchungen zum Stoffwechsel intravenöser Kurz-narkotika. *Arch. internat. Pharmacodyn.* **118**, 12 (1959). — GOLDSCHMIDT, S., u. R. WEHR: Über Barbiturate. III. Mitt. Der Metabolismus von Veronal. *Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem.* **308**, 9—19 (1957). — GROENER, O.: Zur Frage der Bildung von Phenyläthylacetylarnstoff aus Luminal. Med.-Diss. Erlangen 1958. — HÜBNER, G., u. E. PFEIL: Der Nachweis von Barbituraten. *Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem.* **296**, 225—228 (1954). — JAMINET, F.: Séparation de quelques anesthésiques locaux par chromatographie de partage sur papier. *J. Pharm. Belg.* Nr 3—4 (1951). — JATZKEWITZ, H.: Ein klinisches Verfahren zur Bestimmung von basischen Suchtmitteln im Harn. *Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem.* **292**, 94—100 (1953). — Überprüfung und Anwendung eines klinischen Verfahrens zur Bestimmung von Suchtmitteln im Harn. *Dtsch. med. Wschr.* **79**, 541—543 (1954). — KAISER, H., u. H. JORI: Beiträge zum toxikologischen Nachweis von Dromoran „Roche“, Morphin, Dilaudid, Cardiazol, Coramin und Atropin mit

Hilfe der Papierchromatographie. Arch. Pharm. (Weinheim) **287**(59), 224—242, 254—258 (1954). — KORTE, F., u. H. WEITKAMP: Messung von Absorptions- und Fluoreszenzspektren an Papierchromatogrammen. Angew. Chem. **70**, 434 (1958). — LEDERER, E., and M. LEDERER: Chromatography. A review of principles and applications. Amsterdam-Houston-London-New York: Elsevier Publ. Company 1953. — LUSSMAN, D. J., E. R. KIRCH u. G. L. WEBSTER: Zit. LEDERER u. LEDERER. — MOHRSCULZ, W.: Praktische Winke für den Nachweis von Barbitursäurederivaten in pharmazeutischen Zubereitungen. Arch. Pharm. (Weinheim) **289**(61), 117—122 (1956). — Versuche zur papierchromatographischen Differenzierung von Schlafmittelgiften im Urin. Arch. Pharm. (Weinheim) **289**(61), 508—521 (1956). — MUNIER, R., u. M. MACHEBOEUF: Zit. LEDERER u. LEDERER. — OTTO, J. F.: Anleitung zur Ausmüttelung der Gifte und zur Erkennung der Blutflecken bei gerichtlich-chemischen Untersuchungen. 3. umgearb. u. vermehrte Aufl. Braunschweig: F. Vieweg & Sohn 1867. — PALMIERI, V. M., et C. ROMANO: La chromatographie de partage sur papier e Médecine Légale. Acta med. lég. (Liège) **6**, 239—243 (1953). — PREUSS, FR. R.: Vortrag über Valamin-Abbaustoffen, gehalten am 31. 10. 58 in Bad Homburg, Arbeitskreis Südwestdeutschland der Fachgruppe Lebensmittel- und gerichtliche Chemie in der G. d. Ch. — RAMSAUER, I.: Versuche zum Nachweis von Butazolidin und Butazolidinstoffwechselprodukten im Harn. Med.-Diss. Erlangen 1957. — RAVENTÓS, J.: The distribution in the body and metabolic fate of barbiturates. J. Pharm. (Lond.) **6**, 217 (1954). — REIMERS, F., u. K. R. GOTTLIEB: Zit. LEDERER u. LEDERER. — ROMANO, C.: Nuove tecniche per l'estrazione e l'identificazione di alcuni veleni. Arch. Sci. biol. (Bologna) **36**, fasc. 5 (1952). — SEIFERT, P., u. G. GELDMACHER: Zur papierchromatographischen Analytik von aus alkalischem Milieu extrahierbaren organischen Giften. Arch. Toxikol. **15**, 305—312 (1955). — SEIFERT, R.: Papierchromatographische Erfassung einiger wichtiger Barbitursäurederivate. Arzneimittel-Forsch. **6**, 413 (1956). — SCHEIBE, E.: Bemerkungen zum Nachweis von Alkaloiden in biologischem Material mit Hilfe der Papierchromatographie. Psychiat. Neurol. med. Psychol. (Lpz.) **7**, 242—247 (1955). — SCHOLZ, H.: Über den papierchromatographischen Nachweis von Pyramiden, Antipyrin und deren Ausscheidungsprodukten im Harn. Med.-Diss. Erlangen 1954. — STAS, J. S.: Recherches medico-legales sur la nicotine, suivies de quelques considérations sur la manière générale de déceler les alcalis organiques dans le cas d'empoisonnement. Bull. Acad. roy. Méd. Belg. **11**, 202—313 (1851). — VIDIC, E.: Die Anwendung papierchromatographischer Methoden beim forensischen Suchtmittelnachweis. Arzneimittel-Forsch. **5**, 291—295 (1955). — Eine Methode zur Identifizierung papierchromatographisch isolierter Arzneistoffe. Arch. Toxikol. **16**, 63—73 (1956). — Zum Nachweis der Entmethylierung von Phenylisopropyl dimethylamin im menschlichen Körper. Arzneimittel-Forsch. **6**, 26—28 (1956). — WAGNER, G.: Die papierchromatographische Identifizierung und quantitative Trennung einiger Lokalanästhetika. Arch. Pharm. (Weinheim) **286**(58), 232—241 (1953). — WAGNER, G., u. U. ZIMMER: Zur Papierchromatographie und Papierionophorese verschiedener Lokalanästhetika der Procainreihe und ihrer Spaltprodukte. Pharm. Acta Helv. **30**, 385—407 (1955). — WILDEN, CH.: Papierchromatographische Untersuchungen von Harnextrakten. Med.-Diss. Erlangen 1955. — WEINIG, E., u. Gg. SCHMIDT: Über die Ausscheidung von Arzneimitteln im Schweiß und deren Nachweis in Körperwäse. Kriminalwissenschaft. Beil. z. Kriminalistik H. 3 (1954). — WERLE, E., u. J. KOCH: Zit. LEDERER u. LEDERER. — WICKSTROM, A., and B. SALVESEN: The separation and identification of some barbiturates by paper partition chromatography. J. Pharm. (Lond.) **4**, 98 (1952).

Priv.-Doz. Dr. Gg. SCHMIDT, Institut für gerichtliche Medizin,
Erlangen, Universitätsstr. 22,

Druck der Universitätsdruckerei H. Stürtz AG., Würzburg

Aus dem Institut für gerichtliche Medizin und Kriminalistik der Universität
Erlangen (Vorstand: Prof. Dr. Dr. E. WEINIG)

Vorkommen und Ausscheidung von α -Äthyl- α -Oxybuttersäure nach Adalinaufnahme***

Von
GEORG SCHMIDT

Mit 2 Textabbildungen

(Eingegangen am 9. März 1956)

Von den Schlafmitteln der Harnstoffreihe ist Adalin seit mehr als vierzig Jahren das bekannteste. Auch unter anderen Schutzbezeichnungen wird Bromdiäthylacetylcarbamid verwendet, z. B. als Adormin, Carbromal, Dibroluur, Nyctal, Somben, Tildin. Der Mißbrauch von Adalin, der durch die gegenüber den Barbituraten gelockerte Rezeptpflicht gefördert wird, führt zwar selten zu tödlichen Vergiftungen, da erst 10—30 g (= 20—60 Tabletten) als tödliche Dosis bei Erwachsenen zu betrachten sind (MOESCHLIN); in der Kombination mit Barbituraten (z. B. im Sekundal, Tempidorm) ist es aber häufiger bei tödlichen Vergiftungsfällen zu finden. Weitere Kombinationspräparate sind Temagin und Doroma (neu).

Bis jetzt gab es keine Möglichkeit, den Beweis einer Adalinaufnahme durch Untersuchung des Harns zu führen. Das Adalinmolekül wird in bisher unbekannter Weise im Körper abgebaut. Lediglich die Untersuchung des ausgeheberten oder bei der Sektion gesicherten Mageninhalts, weniger die des Duodenalinhalts, gestattete unter Umständen die Isolierung und Identifizierung von unverändertem Adalin, das in Säuren schlecht, in Alkalien gut löslich ist. Die Resorption wird deshalb auch erst im Dünndarm angenommen.

* Diese Arbeit wurde mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft durchgeführt, wofür ihr auch an dieser Stelle besonderer Dank ausgesprochen wird.

*** Auszugsweise auf der Jahresvslg. d. Dtsch. Ges. f. gerichtl. u. soziale Med. in Düsseldorf am 26. 7. 1955 vorgetragen.

Im Reagensglasversuch erhielten ROSENMUND u. HERRMANN beim Kochen von Bromdiäthylacetylcarbamid mit verdünnter Natronlauge folgende Produkte:

Alkalibromid,
Alkalieyanid,
Ammoniak,
Diäthylhydantoin,
Äthylcrotonylharnstoff,
ein hochsiedendes Öl,
einen hochschmelzenden alkalilöslichen Körper.

Dagegen fand nach Körperpassage von Adalin FILIPI eine „Halogen-Fettsäure“ im Harn, die bei 87–89° C schmolz und die er für Bromdiäthyllessigsäure hielt. Andere Untersucher konnten diesen Befund nicht bestätigen. ROSENMUND hielt die Auffassung von FILIPI für irrig, da die Brom diäthyllessigsäure einen Schmelzpunkt von 20° C hat.

Mit der Untersuchung des Harnes nach Adalinaufnahme beschäftigten sich vor allem SCHÄFER, IMPENS, TAKEDA, WOLAHN u. EDLER. Sie fanden anorganisches Bromid im Harn und nur in Spuren organisch gebundenes Brom in ätherlöslicher Verbindung. EDLER glaubte auch Spuren einer Substanz erkannt zu haben, in der er unverändertes Adalin vermutete. Der Nachweis von anorganisch und organisch gebundenem Brom nebeneinander gab deshalb bisher bei der Untersuchung des Harnes den einzigen Hinweis auf eine erfolgte Aufnahme von Bromdiäthylacetylcarbamid. In Ausscheidungsversuchen am Menschen wurde von IMPENS u. EDLER festgestellt, daß organisch gebundenes Brom nur in einem sehr geringen Prozentsatz und nur bis kurze Zeit (5 Tage) nach Beendigung der Adalinaufnahme im Harn erscheint. Anorganisches Brom soll dagegen noch 4 Wochen lang nach Beendigung einer 7tägigen Adalinaufnahme von insgesamt 7 g ausgeschieden worden sein und sollte (EDLER) 86,74% des aufgenommenen Broms erreicht haben!

Von normalem Bromvorkommen im Harn wird von den genannten Autoren nichts erwähnt, obwohl ABELIN u. PORETTI für normales Serum einen Bromgehalt zwischen 500 und 1000 γ % angeben.

Der Nachweis von Brom aus biologischem Material ist schwierig zu führen. MANTEL hat in seiner Dissertation die am meisten gebräuchlichen Bromnachweis- und -bestimmungsmethoden referiert und festgestellt, daß die Fehlerbreite mit fallenden Brommengen stark ansteigt. Dies deckt sich mit unseren eigenen Erfahrungen, die mit der von EDLER modifizierten Methode nach BERGLUND-TOXOPÉUS gewonnen wurden. Ist Brom nur in Bruchteilen von Milligrammengen im Untersuchungsmaterial vorhanden, so wird die quantitative Bestimmung sehr ungenau, da beim Aufschluß unkontrollierbare Mengen verlorengehen.

Für den forensisch-toxikologischen Nachweis von Adalin ist mit dem Auffinden von Brom in Harn nicht viel gewonnen, da erstens die Bromausscheidung auch nach einmaliger Aufnahme viele Tage anhält, zweitens so viele bromhaltige Arzneimittel im Handel sind, daß eine Zuordnung unmöglich ist und drittens mit physiologischen Brommengen zu rechnen ist.

Da die Frage einer Adalinaufnahme in der forensisch-toxikologischen Praxis immer wieder an uns herangetreten ist, haben wir unter Mitwirkung von WALZ, DEISEL u. BURGDORF ausgedehnte Harnuntersuchungen nach therapeutischer Adalinaufnahme durchgeführt. Sie erbrachten zunächst das unerwartete Ergebnis, daß nach Einnahme von Adalin im Harn deutlich vermehrt Benzoesäure zu finden war. Auffallend war besonders, daß nach erstmaliger Adalinverabreichung oder

bei erneuter Aufnahme nach längerer Pause von mehreren Wochen immer ein vermehrtes Vorkommen der Benzoesäure im Harn des folgenden Tages festzustellen war.

Der Anstieg der Benzoesäureausscheidung im Harn kann für einen Hinweis auf Adalinaufnahme nicht herangezogen werden, denn Benzoesäure kommt im Harn an sich in stark wechselnden Mengen vor. Außerdem haben wir bei anderen Versuchen nach erstmaliger Aufnahme von Persedon, Cliradon, Barbituraten und verschiedenen Pyrazolonderivaten ebenfalls Benzoesäurevermehrung festgestellt.

Hippursäure, die bekanntlich nach der Aufnahme verschiedener Arzneimittel vermehrt im Harn gefunden wurde, kam bei unseren Versuchen in stark wechselnden Mengen vor.

Nachdem wir zahlreiche Harnuntersuchungen mit verschiedener Extraktionstechnik durchgeführt hatten, fanden wir mit DEISEL nach mehrtägiger Adalinaufnahme *erstmalig eine zunächst unbekannte kristallisierbare Substanz im Vakuumsublimat*, die bisher noch nie in unseren „Leerharn“-Extrakten beobachtet worden war. Die Versuchsperson hatte bei dieser Versuchsreihe 4 Tage lang je 1 g und am 5. Tag 2 g Adalin jeweils abends eingenommen. Die Medikation wurde zunächst gut vertragen, lediglich am 5. Tage stellte sich eine gewisse Benommenheit nach etwas verlängertem Nachtschlaf ein, die aber die Arbeitsfähigkeit nur mäßig beeinträchtigte. Von dem gesammelten Tagesharn wurde jeweils eine Menge von 500–600 ml nach Ansäuerung mit Salzsäure mittels Äther erschöpfend extrahiert und der getrocknete Äther durch Warmluft verjagt. Die Rückstände wurden mit geglühtem Natriumsulfat vermengt und im Vakuum (16 mm Hg) sublimiert. Für diese Versuche wurde anfänglich ein einfacher Aluminiumheizblock mit Bohrloch verwendet, in das ein Reagensglas eintauchte. Das obere Drittel des Reagensglases wurde mit einer Wasserschlange gekühlt.

Bei dieser Methodik wurde in den Harnextrakten der einzelnen Tage in zunehmender Menge eine weiße, kristalline Substanz isoliert, die nach der Resublimation einen Schmelzpunkt von 76–77° C aufwies. Die Substanz war in Äther, Wasser und Alkohol gut löslich, war halogen- und stickstofffrei und hatte Säurecharakter. Beim Glühen hinterließ sie keinen Rückstand. Im Extrakt des zuletzt untersuchten Harnes vom 6. Tag war sie in einer Menge von etwa 10 mg enthalten.

Einmal aufmerksam geworden, fanden wir diese Substanz in zahlreichen Harnextrakten nach Adalinaufnahme wieder, und zwar auch schon *nach einmaliger Aufnahme von 2–4 Tabletten*. Insgesamt wurden jeweils zahlreiche Harnportionen von 4 männlichen und 4 weiblichen erwachsenen Versuchspersonen während mehrtägiger Adalinaufnahme untersucht. Dabei stellte sich heraus, daß die gleichzeitig ausgeschiedene Benzoesäuremenge in frischen Harnen um so kleiner war, je mehr von der

unbekannten Substanz in den Sublimaten zu finden war. Diese Substanz ließ sich bereits vor der chemischen Identifizierung durch die Bestimmung kristalloptischer Konstanten gut nachweisen.

Da bei der Vakuumsublimation mit Hilfe des Aluminiumblockes Benzoesäure und die unbekannte Substanz sich oft störend überlagerten, verwendeten wir bald eine andere Apparatur, die von M. BEHRENS entwickelt und uns freundlicherweise zur Verfügung gestellt worden war. Dieses Gerät hat sich uns auch bei vielen anderen Substanztrennungen gut bewährt. Es besteht aus einer waagrecht gelagerten Glashülse, in die das Sublimationsrohr (4–5 mm Durchmesser, 600 mm Länge) eingeschoben wird. Die Glashülse wird durch Umwicklung mit Heizdraht so erwärmt, daß ein kontinuierlicher Temperaturabfall von einem zum anderen Ende entsteht. In diesem Wärmegradienten verteilen sich die sublimierenden Substanzen je nach ihrer druckabhängigen Verdampfungstemperatur, so daß eine Trennung zu erzielen ist. Sie schlagen sich im Innern der Glasrohre in Zonen nieder und werden nach Zerschneiden des Glasrohres herausgelöst. Zur Vermeidung dieses Arbeitsganges statteten wir das Gerät mit einer in das Sublimationsrohr eingezogenen hitzebeständigen Kunststoff-Folie aus. Die Firma Kalle & Co. stellte uns ihre „Hostaphanfolie“ zur Verfügung, deren Erweichungstemperatur bei 150° C liegt. Die Folie eignet sich für Vakuumsublimationen bis 200° C und verklebt auch nach Erweichung nicht mit dem Rohr. Sie gestattet nach beendiger Sublimation das trockene Entfernen der Sublimatfraktionen aus dem Rohr unter Erhaltung der im Vakuum erhaltenen, besonders schönen Kristalle für eine optische Identifizierung. Das Vakuum von 10^{-1} – 10^{-2} Torr wird durch eine zweistufige Ölpumpe erzeugt. Die meisten Sublimationen nehmen in diesem Gerät 5–20 min in Anspruch. Das Untersuchungsmaterial wird in einem Arbeitsgang praktisch quantitativ fraktioniert sublimiert.

Nachdem die von uns gefundene unbekannte Substanz nur in Harnen auftrat, die nach Adalinaufnahme gewonnen worden waren, erschien die Konstitutionsaufklärung wünschenswert. Da die Substanz gut wasserlöslich war, wurde sie zur Beseitigung der Verunreinigung durch Benzoesäure in wenig Wasser gelöst und erneut mit Äther extrahiert. Nach dem Trocknen des Äthers mit Natriumsulfat und nach dem Eindampfen wurde der Rückstand wiederholt im Vakuum umsublimiert. Wegen der geringen Substanzmenge von etwa 20 mg, die nach der Reinigung übrig blieb, wurde zunächst versucht, durch Messung der Infrarotabsorption einen Einblick in die Struktur zu bekommen. Diese Untersuchung wurde freundlicherweise von Herrn Dr. OSWALD durchgeführt. Im Infrarotspektrometer Modell 112 von PERKIN-ELMER wurde die als Schmelztropfen zwischen zwei erhitzte Steinsalzplättchen gebrachte Substanz im Bereich zwischen 1 und 15 μ spektrographiert (siehe Abb. 1a). Das Absorptionsspektrum ließ erkennen, daß es sich um eine kurzgliedrige Fettsäure handelte.

Der Rest der Substanz wurde elementaranalytisch untersucht. Dabei ergaben sich folgende Werte:

C	52,95%
H	9,35%
O	36,74%
	99,04%

Diesynthetisierte α -Äthyl- α -Oxybuttersäure hatte einen Schmelzpunkt von 80° C, der Schmelzpunkt der Gemische mit unserer aus Harn-extrakten isolierten Säure lag ohne nennenswerte Depression bei 78° C. Die infrarotspektrographische Untersuchung ergab das gleiche Absorptionsspektrum (Abb. 1b) und die festgestellten kristalloptischen Daten stimmten mit denen unserer Säure gut überein.

Damit war bewiesen, daß es sich bei der von uns gefundenen Säure tatsächlich um α -Äthyl- α -Oxybuttersäure handelte, und der Schluß war gerechtfertigt, daß diese Säure in den Harn-extrakten aus dem Abbau des Adalinmoleküls stammte.

Bei dieser Substanz handelt es sich um die *Diathoxalsäure* der älteren Literatur, die im menschlichen Körper unseres Wissens bisher nicht beobachtet worden ist. FRANKLAND erhielt die Säure als erster 1867 durch Verseifen des Diathoxalsäure-diäthylesters. Auf Veranlassung von ERLÉNMEYER wurden von SILBER 1877 eingehendere Untersuchungen über die Diathoxalsäure und ihre Abkömmlinge durchgeführt. HAUSHOFER fuhrte im Zusammenhang mit den Untersuchungen von SILBER 1877 die kristallographische Untersuchung der Diathoxalsäure und einiger Salze durch. Er stellte fest, daß die freie Säure in Form trikliner, pinakoidaler Blättchen auskristallisierte und folgende Daten aufwies:

$a : b : c = 0,2654 : 1 : ?$

$\alpha = 68^\circ 54'$; $\beta = 114^\circ 17'$; $\gamma = 107^\circ 38'$.

beobachtete Formen: $b \{010\}$; $a \{100\}$; $c \{001\}$; selten $p \{110\}$.

$a : b = 79^\circ 30'$. $a : c = 70^\circ 08'$. $b : c = 105^\circ 43'$. $p : b = 65^\circ 49'$. (HAUSHOFER).

Während bei der chemischen Umwandlung des Bromdiäthylacetylcarbamids (Adalin) Diathoxalsäure bisher nicht beobachtet wurde, haben MANNICH u. ZERNIK 1908 bei der Untersuchung des Bromdiäthylacetamids (Neuonal, ein Vorläufer des Adalins) zu einem geringen Prozentsatz u. a. Diathoxalsäureamid erhalten, wenn sie Neuonal mit 10%iger, wäßriger Natronlauge gekocht hatten.

In zahlreichen weiteren Versuchen haben wir festgestellt, daß bei verschiedenen Personen α -Äthyl- α -Oxybuttersäure im Harn in faßbarer Menge dann auftrat, wenn Nebenwirkungen (meistens leichte Benommenheit) nach Adalinmedikation angegeben wurden.

Bei zwei Vergiftungsfällen mit angeblich 10 bzw. 20 Tabletten Adalin fanden wir noch 2 und 3 Tage nach der Giftaufnahme die erwähnte Säure im Harn. Die Vergiftungen hatten jeweils zu einer mehrstündigen Bewußtlosigkeit geführt.

Für die Identifizierung der α -Äthyl- α -Oxybuttersäure eignet sich neben der Schmelzpunktsbestimmung am besten die kristalloptische Untersuchung der Sublimate¹. Wir konnten zwei Modifikationen nachweisen: Beim Sublimieren auf dem Mikroheiztisch nach KOFLER tritt zunächst eine instabile Modifikation (Abb. 2a) auf, die aus kleinen, parallel verachsenen Nadeln besteht und in nahezu rechtem Winkel Aussprossungen

¹ Die kristalloptischen Untersuchungen wurden mit einem von der deutschen Forschungsgemeinschaft zur Verfügung gestellten Standard-Polarisationsmikroskop der Firma Winkel-Zeiss-Göttingen durchgeführt.

aufweist. Die Doppelbrechung ist sehr schwach. In größerer Dichte sublimiert, ergaben sich nach einiger Zeit pinselartig verzweigte, flache Stengel (Abb. 2b), die zur gleichen Modifikation zu rechnen sind. Erst nach einigen Stunden wandeln sich diese Kristallformen in die stabile Modifikation um, die HAUSHOFER beschrieben hat (Abb. 2c). Diese besteht aus schmalen, langen Parallelogrammplättchen mit einem Winkel von 72° . Auch hier ist die Doppelbrechung schwach. Die Auslöschung

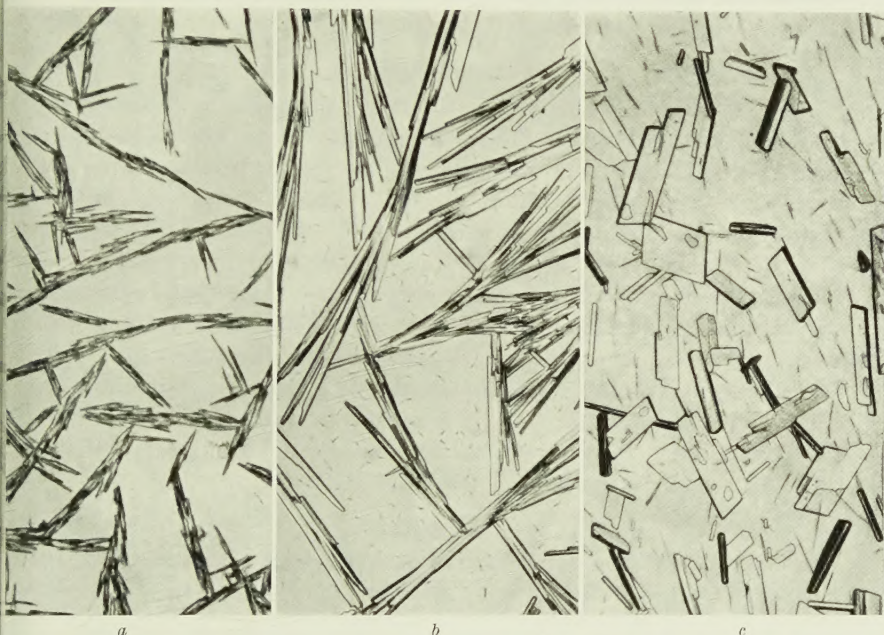


Abb. 2. a—c. α -Äthyl- α -Oxybuttersäure. Fp 80° . a) Frisches Sublimat, instabile Modifikation. 400 : 1. b) Nach längerer Sublimationsdauer; Übergang von der instabilen zur stabilen Modifikation. 200 : 1. c) Das gleiche Sublimat einige Stunden nach der Sublimation, stabile Modifikation. 200 : 1

erfolgt fast parallel zu den Längskanten mit einer Schiefe von 3° . Die Kristalle sind optisch zweiachsig und besitzen einen kräftigen Dichroismus. Für die Bestimmung der Brechungsindices eignet sich am besten Paraffinöl, das mit 1,4691 gerade zwischen $n_{\alpha'}$ und $n_{\gamma'}$ liegt.

Bei fraglichen Vergiftungsfällen dürfte die Extraktion von 50 ml Harn genügen, um eine Adalinaufnahme nachzuweisen, die die therapeutische Dosis überschritten hat. *Unverändertes Adalin konnten wir im Harn noch niemals nachweisen.* Es scheint, daß das Molekül bei der Körperpassage quantitativ abgebaut wird. Auf welchem Wege der Abbau erfolgt, ist noch nicht geklärt. In Betracht kommt die hydrolytische Abspaltung des Harnstoffs nach Substitution des Broms am tertiären C-Atom durch eine Hydroxylgruppe.

Bis jetzt gelang es uns nicht, ein weiteres Abbauprodukt zu fassen. Bemerkt sei noch, daß wir in Wasserdampfdestillaten von Adalinharnen stets eine schwach positive Reaktion nach AVERELL u. NORRIS fanden, die mit und ohne Reduktion der Probe auftrat, wie sie sonst bei aromatischen Aminokörpern beobachtet wird. Bei der Untersuchung der alkalisierten Harnen nach der WIDMARK-Methode traten Werte bis 0,2⁰/₀₀ (berechnet für Äthanol) auf, die auf die Anwesenheit flüchtiger reduzierender Substanzen hinwiesen. Nach der Alkoholdehydrogenasemethode war der Harn äthylalkoholfrei.

Zusammenfassung

Nach Adalinaufnahme wurde im Harn als Abbauprodukt erstmals eine halogen- und stickstofffreie organische Säure gefunden und als α -Äthyl- α -Oxybuttersäure identifiziert. Sie kann bereits nach therapeutischer Aufnahme von Adalin im Ätherextrakt des sauren Harnes in Spuren, bei Adalinvergiftung in größeren Mengen beobachtet werden, wenn der Verdampfungsrückstand im Vakuum sublimiert wird. Für die Identifizierung in kleinen Mengen eignet sich am besten die Bestimmung der kristalloptischen Konstanten nach Isolierung der Substanz durch Vakuumsublimation im Wärmegradienten von M. BEHRENS.

Da ein natürliches Vorkommen der α -Äthyl- α -Oxybuttersäure im Körper nicht beobachtet wurde, kann das Auffinden dieser Säure im Harn als Beweis für eine Aufnahme von Bromdiäthylacetylcarbamid (Adalin) angesehen werden.

Literatur

- ABELIN, I., u. G. PORETTI: Schweiz. med. Wschr. **1952**, 1186. — AVERELL, P.R., u. M. V. NORRIS: Analyt. Chem. **20**, 753 (1948). — BEHRENS, M.: Naturwissenschaften **41**, 1 (1954). — BERGLUND, Z.: Z. anal. Chem. **24**, 184 (1885). — BURG-DORF, H.: Diss. Erlangen, noch unveröffentlicht. — DEISEL, K.: Diss. Erlangen 1955. — EDLER, W.: Diss. Bonn 1939. — ERLÉNMEYER, E. sen.: Zit. SILBER, P. — FILIPI, E.: Arch. Farmacol. sper. **12**, 233 (1911). — FRANKLAND, E.: Liebigs Ann. **126**, 109. — HAUSHOFER, K.: Z. Krystall. **1**, 619 (1877). — IMPENS, E.: Med. Klin. **1910**, 1861. — Ther. Gegenw. **1912**, 162. — KOFLER, L., u. A.: Thermomikromethoden, Weinheim 1954. — MANNICH, C., u. F. ZERNIK: Chem. Zbl. **1908**, 1831. — Arch. Pharmaz. **246**, 178 (1908). — MANTEL, F.: Diss. Heidelberg 1949. — MEYER, R.: Ann. Chem. **219**, 240 (1883). — MOESCHLIN, S.: Klinik und Therapie der Vergiftungen. Stuttgart 1956. — ROSENMUND, K. W.: Ber. dtsch. chem. Ges. **1907**, 4470. — ROSENMUND, K. W., u. F. HERMANN: Ber. dtsch. pharmaz. Ges. **22**, 96 (1912). — SCHÄFER, P.: Münch. med. Wschr. **1910**, 2695. — SILBER, P.: Diss. Freiburg. 1877. — SPÄTH-KAISER: Chemische und mikroskopische Untersuchung des Harns. Leipzig 1936. — TAKEDA, S.: Arch. internat. Pharmacodynamic **21**, 203 (1911). — TOXOPÉUS, M. A. B.: Arch. exper. Path. u. Pharmacol. **149**, 263 (1930). — WALZ, K. F.: Diss. Erlangen 1954. — WOJAHN, K.: Diss. Kiel. 1938.

Dr. G. SCHMIDT, Erlangen, Institut f. ger. Medizin u. Kriminalistik d. Univ., Krankenhausstr. 8

